

Cambios ultraestructurales del trofoblasto en los casos de hipoxia durante la preeclampsia

Prof. Olivar Castejón, Dra. Ángela J. López*, Br. Oliver C. Castejón**

RESUMEN

Objetivo: Examinar la ultraestructura del sincitiotrofoblasto en placentas de embarazadas complicadas con preeclampsia con especial referencia al efecto de la hipoxia sobre la estructura fina del tejido.

Métodos: Diez placentas, a término, afectadas por preeclampsia, fueron tomadas inmediatamente después del parto por cesárea y de cada una de ellas tres biopsias de la superficie maternal se disecaron en sala de parto, en especímenes de 2 a 5 mm, y se fijaron por inmersión en glutaraldehído al 4 %, pH 7,4, a 4° C. Posteriormente se dividieron en fragmentos de 1 mm y sumergidos en solución fresca fijadora por períodos variables de 2 a 72 horas seguidas por una fijación secundaria en tetraóxido de osmio al 1 % en buffer fosfato 0,1 M durante 1 hora. Las muestras se procesaron siguiendo los procedimientos convencionales de la microscopía electrónica de transmisión para su observación.

Ambiente: Laboratorio de microscopía electrónica del Ciadana, Facultad de Ciencias de la Salud, Maracay.

Resultados: Los hallazgos revelan proyecciones de la membrana plasmática del sincitio de diversas formas, que simulan desprenderse de la superficie. La membrana basal del sincitio se mostró engrosada. Mitocondrias en diversos grados de degeneración presentaron partículas electron densas en la matriz mitocondrial. Regiones apicales del citoplasma sincitial parecen desprenderse hacia el espacio intervelloso. Numerosas vacuolas intracitoplasmáticas y ampliaciones de las cisternas del retículo endoplásmico rugoso se destacan en el citoplasma. Interrupciones de la membrana sincitial y regiones citoplásmicas sin membrana plasmática se notaron.

Conclusión: Fragmentos del sincitio desprendidos de la superficie del mismo sugieren ser los corpúsculos que dañan los endotelios de la unidad materna – feto – placentaria constituyendo uno de los estímulos para el mantenimiento de la patogénesis de la preeclampsia.

Palabras clave: Fragmentos sincitiales. Hipoxia. Preeclampsia.

SUMMARY

Objective: To examine the ultrastructure of the syncytiotrophoblast in placenta of pregnant woman with pre-eclampsia is the objective of this work with special reference to the effect of hypoxia on the fine structure of the tissue.

Method: Ten placentae at term affected by pre-eclampsia were taken immediately after delivery by caesarea and from each one three biopsies from maternal surface were dissected in delivery room in specimens of 2 a 5 mm and fixed by immersion in 4 % glutaraldehyde – 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4, at 4° C. Later, they were divided into 1- mm fragments and immersed in a fresh similar solution for periods varying from 2 to 72 hours followed by secondary fixation in 1 % osmium tetroxide – 0.1 M phosphate buffer for 1 hour. The samples were processed according to the conventional procedures of transmission electron microscopy for their observation.

Setting: Laboratory of electron microscopy from CIADANA, Faculty of Sciences of Health, Maracay.

Results: The findings reveal prolongations of the plasmamembrane or microvilli of the syncytium of different forms which seem release of the surface. The basal membrane of the syncytium appeared thickened. Swollen mitochondria in diverse degenerative grade were seen with particles electron dense in their matrix. Apical regions of cytoplasm seem detach to maternal circulation. Numerous intracytoplasmic vacuoles and dilated cisterns of the rough endoplasmic reticulum were seen into cytoplasm. Interruptions of the syncytial plasmamembrane and regions of cytoplasm without plasma membrana were observed.

Conclusion: Fragments of syncytium detached from trophoblast surface suggest to be the corpuscles that damage the endothelium of the unity placental – feto – maternal and can be the stimulus to the perturbation of endothelial cell function in the pathogenesis of pre-eclampsia.

Key words: Syncytial fragments. Hypoxia. Pre-eclampsia.

* Estudiante de la Maestría en el Posgrado de Morfología de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela. Prof. Asistente de Morfología del Dpto. de Ciencias Morfofisiológicas de la Escuela de Bioanálisis, Facultad

de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo – Núcleo Aragua.** Estudiante del cuarto año de medicina, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Pasante del CIADANA.

INTRODUCCIÓN

Según Kingdom y Kaufmann (1) tres tipos de hipoxia diferentes ocurren en la unidad fetoplacentaria que afectan el desarrollo de la vellosidad conocidas como hipoxia preplacentaria, uteroplacentaria e hipoxia posplacentaria. La uteroplacentaria corresponde a una condición donde el flujo diastólico terminal umbilical está preservado y la oxigenación materna es normal, pero debido a una circulación uteroplacentaria dañada, la placenta y el feto están hipóxicos (2) durante la preeclampsia. Esta condición que lesiona al sincitio puede causar la muerte fetal. El sincitio mediante mecanismos histopatológicos reduce su grosor, aumenta los nódulos sincitiales, manifiesta agregación de la cromatina nuclear y desencadena procesos de apoptosis (3).

Estos cambios degenerativos ampliamente estudiados con la microscopia de luz han sido de pocos estudios a nivel ultraestructural. La hipoxia fetal es común cerca del término y ocasionalmente puede llevar a muerte o sufrimiento fetal cuando se asocia a preeclampsia (4). La mayoría de los estudios realizados en condiciones de hipoxia hacen referencia a explantes de tejidos que son cultivados haciendo especial referencia a la proliferación del citotrofoblasto bajo el daño provocado al sincitio por la baja presión de oxígeno (5).

La ultraestructura del trofoblasto de placentas procedentes de embarazadas complicadas con preeclampsia pudiera contribuir en parte, con un mejor entendimiento de los mecanismos que subyacen a la patogénesis de esta enfermedad que severamente afecta al embarazo. Ha sido sugerido que material de origen trofoblástico es el estímulo responsable, entre otros, del mantenimiento durante el embarazo del inicio y desarrollo la patogénesis de la preeclampsia (6). El examen ultraestructural del trofoblasto en placentas de embarazadas complicadas con preeclampsia es el objetivo de este estudio, con especial referencia al efecto de la hipoxia sobre la estructura fina del tejido.

MÉTODOS

Se tomaron 10 placentas a término, de embarazos clínicamente con diagnóstico de preeclampsia, inmediatamente después de los respectivos partos por cesáreas. De cada una de ellas, tres pequeñas biopsias fueron tomadas de la superficie materna, seleccionadas al azar, de la región central parabasal, en el plano vertical, según las indicaciones de Bacon

y col. (7).

Las muestras fueron disecadas en biopsias de 2 a 5 mm de grosor inmediatamente después de ser tomadas y fijadas inmediatamente en glutaraldehído al 4 % en buffer fosfato 0,1 M a 4° C, pH 7,4. Posteriormente se dividieron en fragmentos de 1 mm y sumergidos en solución fresca fijadora por períodos variables de 2 a 72 horas seguidos por una fijación secundaria en tetraóxido de osmio al 1% en buffer fosfato 0,1 M, pH 7,4, durante 1 hora.

Después de la deshidratación en una serie creciente de alcoholes y de óxido de propileno, los tejidos fueron incluidos en Epon 812 (Shell Chemical Corp., Swaren, New Jersey, EE.UU).

Las secciones tomadas para estudio se seleccionaron perpendiculares a la superficie del trofoblasto o eje longitudinal de la vellosidad clasificada como terminal en la cual se realiza el intercambio de gases y nutrientes. De cada uno de los tres bloques de plástico, se cortaron dos cortes gruesos de una μm los cuales fueron teñidos con azul de toluidina para la orientación topográfica con microscopia de luz (ML).

Secciones delgadas fueron obtenidas en un ultramicrotomo Porter Blum MT-2 (Ivan Sorvall Inc., Norwalk, Connecticut, EE.UU) equipado con cuchilla de diamante y coleccionadas sobre rejillas de cobre. Dos rejillas por cada bloque fueron teñidas con acetato de uranilo y citrato de plomo y examinadas con los microscopios electrónicos Hitachi HU-B11-1 (Nissei Sangyo Co Ltd, Tokio, Japón) e Hitachi H-500 (Nissei Sangyo Co Ltd, Tokio, Japón). Las secciones ultrafinas fueron observadas a 80 kV usando aperturas de 50 micrones en el objetivo y con una magnificación en un rango de 6 000x a 15 000x.

Micrografías electrónicas fueron seleccionadas, comparando entre otras de placentas aparentemente normales, siguiendo los criterios de tejidos en hipoxia descritos en la literatura (3,5,6) y se examinó en más de sesenta de ellas la ultraestructura correspondiente al trofoblasto de las vellosidades terminales.

RESULTADOS

El análisis submicroscópico de los especímenes placentarios de embarazadas complicadas con preeclampsia demostró con respecto a la membrana plasmática del trofoblasto, acentuados cambios degenerativos como interrupciones y pérdida de microfilamentos asociados a ésta, notándose una desorganización de la estructura inmediatamente por debajo de ella. Con referencia a la matriz hialoplásmica del sincitio se mostró electrón

lúcida conteniendo numerosos gránulos electrón densos u oscuros correspondientes a glucosomas o partículas de glicógeno tipo β o bien a ribosomas que se han desprendido de las membranas del retículo endoplásmico rugoso (RER); evento conocido como degranulación del RER, indicando pérdida de la capacidad de biosíntesis del sincitio.

Se observaron imágenes claras, ovoides o redondas, similares a vacuolas intracitoplasmáticas que se corresponden con degeneración mitocondrial. El resto de la matriz se observa de naturaleza gránulo-filamentosa (Figura 1). El RER también mostró interrupciones de sus membranas. En este cuadro degenerativo cortes transversales de sincitio que muestran la estructura subcelular del trofoblasto exhiben a nivel de la membrana plasmática proyecciones citoplasmáticas muy delgadas o microvellosidades que simulan desprenderse observándose como cuerpos cilíndricos, ovoides o de forma irregular que se notan en el espacio intervelloso (Figura 1).

El sincitio descansa sobre una membrana basal engrosada típica de la ultraestructura del trofoblasto en los casos de desórdenes hipertensivos. Estos cambios ultraestructurales observados entre la membrana plasmática y membrana basal se manifestaron como necrosis citoplasmática en los restos celulares adyacentes pertenecientes al trofoblasto de otras vellosidades (Figura 1).

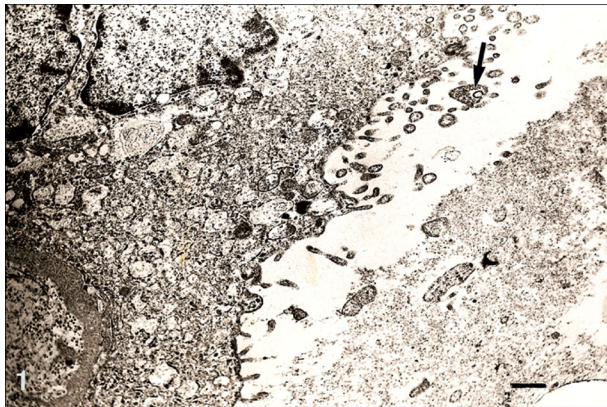


Figura 1. A la izquierda una región de citoplasma sincitial severamente hipóxica mostrando degranulación del RER y membrana basal engrosada rodeando gran cantidad de fibras colágenas; a la derecha restos celulares de la desaparición de una zona similar adyacente, la flecha indica una parte citoplasmática desprendida, cercana a microvellosidades. Barra: 1 μ m.

Cambios degenerativos mitocondriales suelen verse en regiones del citoplasma. Las observaciones mostraron mitocondrias hinchadas. Interrupciones de las membranas mitocondrial externa e interna fueron vistas así como una matriz mitocondrial de baja densidad electrónica indicando la pérdida de las crestas mitocondriales. Las mitocondrias cuando degeneran contribuyen con la formación de pequeñas vacuolas intracitoplasmáticas como ha sido mencionado anteriormente. Estos cambios mostraron que la estructura del trofoblasto tiene dañada la maquinaria para los mecanismos de respiración intracelular. La ultraestructura del trofoblasto se muestra propensa a sufrir fragmentación y liberar así restos celulares. Gránulos electrondensos intramitocondriales se observan en estas mitocondrias hinchadas afectadas por la hipoxia (Figura 2).

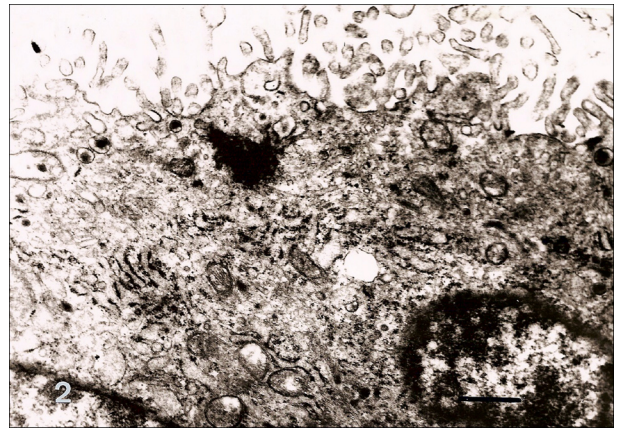


Figura 2. Parte del sincitio que muestra una vacuola al centro; las mitocondrias están edematizadas con cuerpos electrón denso en su interior. Microfilamentos están dispersos en la matriz hialoplásmica, algunas cisternas de RER se observan. Barra: 0,5 μ m.

En algunas zonas del sincitio se observa que hay regiones del citoplasma que podrían fácilmente quedar aisladas del trofoblasto y viajar hacia el espacio intervelloso. Con frecuencia se observa una notable ampliación de cisternas del RER y vacuolas intracitoplasmáticas (Figura 3). Regiones de la membrana plasmática del sincitio interrumpidas o ausentes dejan la matriz citoplasmática en conexión directa con el espacio intervelloso donde se localiza “*in vivo*” sangre materna observándose que hay regiones donde la membrana nuclear del sincitio se

CAMBIOS ULTRAESTRUCTURALES DEL TROFOBLASTO

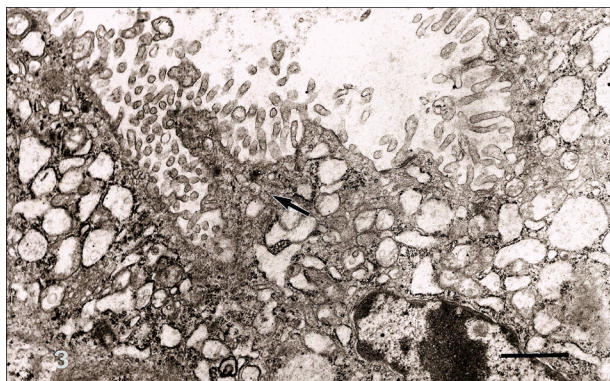


Figura 3. Dilatadas cisternas de RER muestran pérdida de ribosomas, la región indicada por la flecha bajo la turbulencia sanguínea, del espacio intervelloso, se desprende y las membranas delgadas entre las cisternas se rompen quedando la zona separada hacia la sangre materna. Barra: 1 μm .

nota cercana al espacio intervelloso cubierta por una delgada zona de citoplasma sin membrana plasmática que la cubra (Figura 4).

En las regiones donde la hipoxia ha sido muy severa se observaron interrupciones de la membrana plasmática y ocasionalmente, el citotrofoblasto se mostró severamente degenerado (Figura 5). En estas zonas se evidenció necrosis de las células del citotrofoblasto quedando restos de ellas entre la membrana basal del sincitio y la célula endotelial. Zonas de membrana vasculo sincitial presentaron las mismas interrupciones de la membrana plasmática (Figura 6). Estas son zonas de intercambio de gases, nutrientes, electrolitos y hormonas entre el feto y la madre las cuales se presentaron demostrando cambios

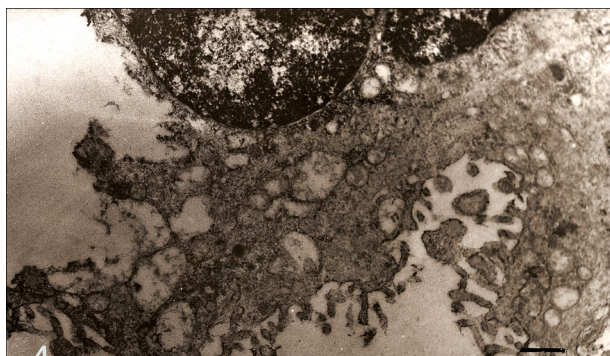


Figura 4. Hacia la izquierda la región del núcleo está rodeado por masa de matriz hialoplásmica no cubierta por membrana plasmática observando un fragmento citoplasmático se desprendió. Barra: 0,5 μm

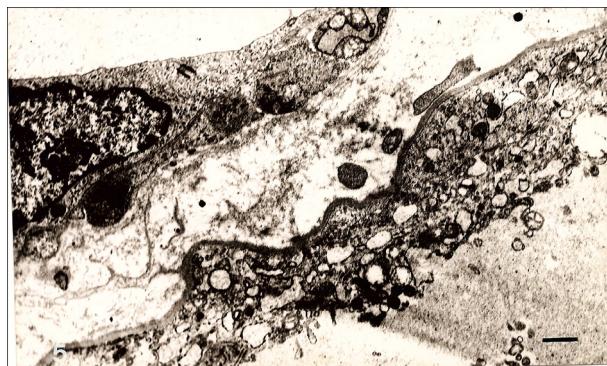


Figura 5. La membrana plasmática se interrumpe a lo largo de la región del sincitio. La desorganización en la ultraestructura del mismo es notable. El citotrofoblasto ha desaparecido entre el sincitio y la célula endotelial, la cual muestra una heterocromatina en necrosis y cambios citoplasmáticos degenerativos acentuados. Barra: 1 μm .

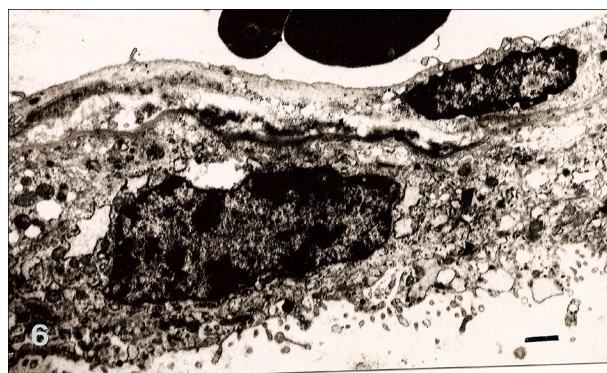


Figura 6. Región de membrana vasculosincitial con el capilar hacia arriba. La membrana basal del trofoblasto, en parte, se observa mientras que la del capilar casi ha desaparecido. El citoplasma sincitial está necrótico. Los núcleos de ambos se notan con heterocromatina condensada vía necrosis. Barra: 1 μm .

ultraestructurales donde la barrera placentaria se observó notablemente afectada. La maquinaria para el intercambio materno-fetal se observa desorganizada y en vías de necrosis celular.

La similaridad de regiones de citoplasma, asociadas a microvellosidades, localizadas en el espacio intervelloso, con regiones de citoplasma del sincitio nos da una imagen en donde se evidencia desprendimiento hacia el exterior de porciones de citoplasma del sincitio (Figura 7). En otras palabras, en la periferia del trofoblasto, con frecuencia se localizan

regiones citoplasmáticas con microvellosidades alejadas de la membrana plasmática del trofoblasto. Cuando se observaron cortes de la superficie del sincitio y sus imágenes fotográficas ampliadas se pudo mostrar que las prolongaciones de membrana plasmática sincitial o microvellosidades semejan alargarse y quedar unidas por una delgadísima región de membrana plasmática y citoplasma que posteriormente pudieran romperse quedando expulsadas del trofoblasto (Figura 8).

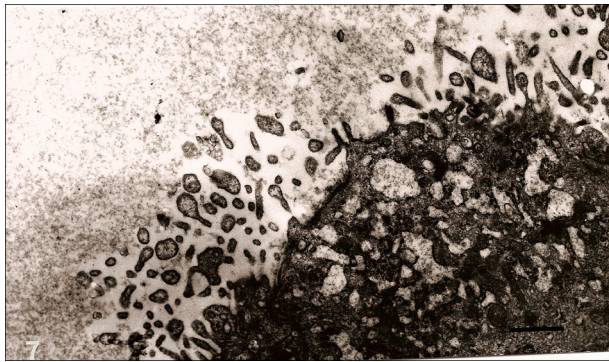


Figura 7. Fragmento de citoplasma (flecha) en el espacio intervelloso se observa similar al observado en la superficie del sincitio. Barra: 1 μ m.

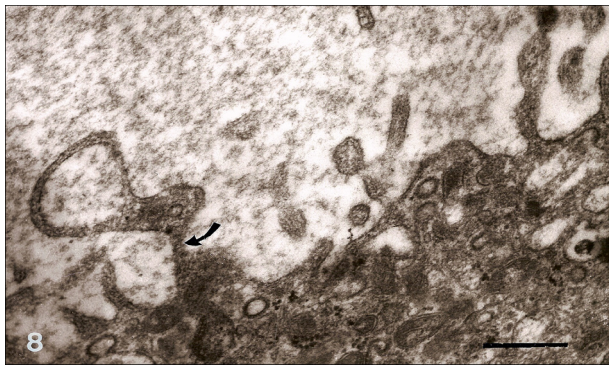


Figura 8. Región de la superficie del sincitio donde microvellosidades de la membrana plasmática se muestran alargadas. Hacia la izquierda la flecha indica una región por donde pudieran desprenderse las microvellosidades hipertrofiadas hacia la circulación materna. Barra: 0,5 μ m.

DISCUSIÓN

El presente estudio demostró que la ultraestructura entre la membrana plasmática sincitial y la membrana

basal del trofoblasto está sufriendo cambios degenerativos, en las vellosidades que posteriormente evolucionan hacia necrosis celular. La isquemia, con la subsecuente hipoxia que afecta a estas embarazadas, inician los cambios observados.

Es conocida la deportación de trofoblasto que se produce mediante desprendimiento del material de la superficie que cubre a la vellosidad hacia el espacio intervelloso y a través de éste a las venas uteroplacentarias ubicadas en la placa basal en dirección a la circulación materna desde donde puede llegar a las vías pulmonares de la embarazada en donde provoca un cuadro de trombosis pulmonar (9).

Los estudios a nivel estructural sobre la placenta preecláptica han hecho poco énfasis en el desprendimiento de regiones del trofoblasto (10). La placenta en procesos fisiológicos o metabólicos normales evidencia la presencia de microvellosidades que expresan una actividad continua de exocitosis o ecdisis que indica una permanente destrucción y neoformación de la membrana plasmática del trofoblasto (11). Cuando los especímenes examinados fueron comparados con estos controles normales se evidenciaron rasgos degenerativos acentuados.

Mediante estudios siguiendo un modelo *in vitro* de perfusión dual donde se perfundió tanto la placa coriónica como la placa basal de cotiledones placentarios se han observado cambios ultraestructurales en el trofoblasto reflejados en vasculización del citoplasma, mitocondrias hinchadas y degeneradas, degeneración de microvellosidades y edema; después de seis horas de perfusión placentaria en condiciones de hipoxia, a 34 mmHg de presión de oxígeno.

Si bien algunos resultados nuestros son similares a los reportados por Bachmaier y col. (12) hemos notado que las características aquí descritas están menos acentuadas que las reportadas por él. Por ejemplo, la hiperplasia de la membrana sincitial es exagerada y la vacuolización citoplasmática casi llega a la total destrucción celular en este estudio. Las diferencias notadas se deben a distintas metodologías empleadas. La nuestra permite fijar el tejido por simple inmersión, inmediatamente después del parto, procedentes de embarazadas afectadas por una enfermedad que supone la presencia de hipoxia; la otra es una perfusión de cotiledones aislados *in vitro* que permite inclusive el estudio metabólico bajo condiciones controladas, verificar la hipoxia tisular mediante técnicas de biología molecular y mantener la barrera placentaria *in vivo* para el estudio de transporte.

Los resultados aquí mostrados son indicativos de que los organelos del sincitio van hacia una severa

degeneración como la demostrada por Bachmaier y col. (12) evidenciada por la casi desaparición del citotrofoblasto como vista en la Figura 5. Estas alteraciones ultraestructurales también han sido observadas en explantes de tejidos placentarios incubados *in vitro* (13).

La patogénesis de la preeclampsia describe un proceso donde un factor placentario se libera a la circulación materna provocando una disfunción endotelial sistémica.

Micropartículas que se originan de las microvellosidades de la membrana del sincitio cuya concentración en plasma de embarazadas, medida en ng/mL se han considerado como uno de los factores, entre otros, responsables del daño endotelial (14). Detritus sincitiales desprendidos en exceso de la superficie del trofoblasto como resultado de un proceso continuo de regeneración, reparación o necrosis se incrementan durante la preeclampsia como consecuencia del pobre suministro de sangre por fallas a nivel de las arterias espirales en el proceso de implantación. Esta hipoperfusión uteroplacentaria lleva a hipoxia tisular (15) que al promover la peroxidación lipídica dañaría las membranas del trofoblasto. En efecto una notable cantidad de detritus placentarios de origen apoptótico y/o necrótico son el estímulo de una respuesta inflamatoria permanente característica de la preeclampsia (16).

Las microvellosidades son así desprendidas encontrándose en el plasma venoso periférico y uterino en una mayor proporción en embarazadas preeclámpicas que en las normales, con una significativa correlación entre ellas y la actividad inhibitoria de la célula endotelial indicando la subyacente disfunción endotelial del síndrome de la preeclampsia. En estos estudios a diferencia del acá realizado los hallazgos fueron ejecutados mediante citometría de flujo y fluoroinmunoensayo (16).

Hemos visto como la maquinaria que mantiene la respiración intracelular y la capacidad para la biosíntesis está dañada en todo el trofoblasto transformándolo en tejido susceptible de ser fragmentado en porciones o partículas más pequeñas las cuales al entrar al espacio intervelloso tendrían la vía para llegar a todos los endotelios de la unidad materno-feto-placentaria.

Los resultados aquí reportados indican también que fragmentos de membranas sincitiales y de citoplasma pueden desprenderse y constituir así la evidencia ultraestructural de los corpúsculos que dañan a los endotelios una vez que se vierten al torrente circulatorio en el espacio intervelloso. Estos

fragmentos de tejidos en contacto con endotelios maternos estarían estimulando un proceso de coagulación intravascular diseminada característico de la preeclampsia.

En estas condiciones de hipoxia, el factor de crecimiento transformante beta 1 (TGFbeta 1), promueve el aumento en la producción de fibronectina, colágeno 1 y colágeno 3 por fibroblastos del estroma de la vellosidad, quienes producen matriz extracelular contribuyendo con la formación de vellosidades fibróticas que son propias de los desórdenes hipertensivos (17).

Al igual que lo observado en estos desórdenes hipertensivos en la placenta diabética, los capilares de la vellosidad están dañados, como consecuencia de la hipoxia y se señala un engrosamiento de la membrana basal, como la vista en nuestros resultados; la separación del trofoblasto del estroma, la distensión y proliferación de células endoteliales, la desorganización del espacio perivascular y el decrecimiento de la superficie vascular en vellosidades terminales (18).

Si nosotros queremos evitar la hipoxia en la placenta, la terapia sería usar monóxido de carbono (MC) porque ha sido comprobado que inhibe la apoptosis del sincitio (19) de la misma manera que se ha aplicado en los trasplantes de órganos. Los desprendimientos de restos de sincitio, que están provocando la preeclampsia, se anularían elevando los niveles de MC en el plasma sanguíneo materno.

Si bien los estudios que preceden reafirman, con sofisticadas técnicas de biología molecular e inmunofluorescencia, lo descrito en 1893 por Schmorl, citado por Lapaire y col. (20), uno de los primeros investigadores en reconocer que la preeclampsia tiene su origen en la placenta; estos nuevos resultados, soportan por primera vez, con técnicas de microscopía electrónica de transmisión aquella visión de hace más de 115 años sobre la presencia de brotes trofoblásticos en los pulmones de mujeres quienes murieron de preeclampsia.

En conclusión, los hallazgos presentados indican que el trofoblasto en embarazadas complicadas con preeclampsia sufre cambios ultraestructurales degenerativos acentuados que lo convierten en un tejido susceptible de ser fragmentado y los detritus del sincitio desprendidos de la superficie del mismo sugieren ser los corpúsculos que dañarían los endotelios de la unidad materno-feto-placentaria constituyendo uno de los estímulos para el mantenimiento de la patogénesis de la preeclampsia.

REFERENCIAS

1. Kingdom JCP, Kaufmann P. Oxygen and placental villous development: Origins of fetal hypoxia. *Placenta*. 1997;18:613-621.
2. Brosens I A. The uteroplacental vessel at term: The distribution and extent of physiological changes. *Trophoblast Res*. 1998;3:61-67.
3. Tominaga T, Page EW. Accommodation of the human placenta to hypoxia. *Am J Obstet Gynecol*. 1996;94:679-691.
4. Majumdar S, Dasgupta H, Bhattacharya K, Bhattacharya A. A study of placenta in normal and hypertensive pregnancies. *J Anat Soc India*. 2005;54:1-9.
5. Fox H. Effect of hypoxia on trophoblast in organ culture a morphologic and autoradiographic study. *Am J Obstet Gynecol*. 1970;107:1058-1064.
6. Huppertz B, Kingdom J, Caniggia I, Desoye G, Black S, Korr H, et al. Hypoxia favorous necrotic versus apoptotic shedding of placental syncytiotrophoblast into the maternal circulation. *Placenta*. 2003;24:181-190.
7. Bacon B, Gilbert R, Longo L. Regional anatomy of the term human placenta. *Placenta*. 1986;7:233-241.
8. Glauert AM. Fixation, dehydration and embedding of biological specimens. Amsterdam, North-Holland Publishing Co., 1987.
9. Sargent IL, Germain SJ, Sacks GP, Kumar S, Redman C WG. Trophoblast deportation and the maternal inflammatory response in preeclampsia. *J Reprod Immunol*. 2003;129:492-498.
10. Thlives JA, Speroff L. Ultrastructure of the placental villi, chorion leave and the decidua parietalis in normal and hypertensive pregnant woman. *Am J Obstet Gynecol*. 1977;129:492-498.
11. Huppertz B, Kaufman P, Kingdom J. Trophoblast turnover in health and disease. *Fetal Matern Med Rev*. 2002;13:103-118.
12. Bachmaier N, Linnemann K, May K, Warzok R, Kuno S, Niemeyer M, et al. Ultrastructure of human placental tissue after 6h of normoxic and hypoxic dual in vitro placental perfusion. *Placenta*. 2007;28:861-867.
13. Malek A, Sager R, Altermatt HJ, Gaeng D, Leiser R, Scheneider H. Glucose consumption and lactate production of human placental tissue under different conditions of in vitro incubation. *J Soc Gynecol Invest*. 1996;3:113-120.
14. Goswami D, Tannetta DS, Magee LA, Fuchisawa A, Redman CWG, Sargent IT, et al. Excess syncytiotrophoblast microparticle shedding is a feature of early-onset preeclampsia but not normotensive growth restriction. *Placenta*. 2006;27:56-61.
15. Zerpa E, De Gavaller B, Aguero O. La placenta en toxemia del embarazo. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 1954;14:42-64.
15. Knight M, Redman CWG, Linton EA, Sargent II. Shedding of syncytiotrophoblast microvilli into the maternal circulation in preeclamptic pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol*. 1998;105:632-640.
16. Chen CP, Yang YC, Su TH, Chen Cy. Hypoxia and transforming growth factor-beta 1 act independently to increase extracellular matrix production. *Endocrinol Metab*. 2005;90:1083-1090.
17. Pietryga M, Biczysko W, Wender- Ozegowska E, Brazert J, Bieganska E, Biczysko R. Ultrastructural examination of the placenta in pregnancy complicated by diabetes mellitus. *Ginekol Pol*. 2004; 75: 111-118.
18. Bainbridge SA, Belkacemi L, Dickinson M, Graham CH, Smith GN. Carbon monoxide inhibits hypoxia/reoxygenation, induced apoptosis and secondary necrosis in syncytiotrophoblast. *Am J Pathol*. 2006;169:774-783.
19. Lapaire O, Holzgreve W, Oosterwijk JC, Brinkhaus R, Bianchi DW. Georg Schmorl on trophoblasts in the maternal circulation. *Placenta*. 2007;28:1-5.

AGRADECIMIENTOS: Al Sr. Raúl Colina y Milagros Díaz de Servicios Técnicos TEM, C.A. Caracas y Dr. Gilberto Sánchez del IVIC por facilitar la infraestructura de Microscopia Electrónica de transmisión; a la Coordinación Administrativa de la Facultad de Ciencias de la Salud Núcleo Aragua, por el fondo fijo institucional para el CIADANA y a la T.S.U. Mary C Isaya por transcribir el manuscrito.

Correspondencia: Prof. Olivar Castejón
 Coordinador General del CIADANA, Prof. Titular en Biología Celular.
 Laboratorio de Microscopia Electrónica. Centro de Investigación y Análisis Docente Asistencial del Núcleo Aragua (CIADANA). Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo – Núcleo Aragua, Maracay, Apdo. 4944. olivar.ciadanauc@gmail.com
 Telf.: 0243-2713305 Ext. 102 Fax: 2713312.