



Microscopía electrónica de barrido de la transformación hidrópica de la vellosidad placentaria.

Resumen

Introducción: Investigar las alteraciones del tejido estromal en vesículas hidrópicas es de interés en la determinación de la fisiopatología de la transformación hidrópica. **Objetivos:** Describir las características tridimensionales de la transformación hidrópica en el estroma de vesículas de mola hidatidiforme y displasia mesenquimal placentaria. **Diseño:** Estudio histológico. **Material biológico:** Especímenes obtenidos por curetaje de pacientes con embarazo molar y displasia mesenquimal placentaria. **Intervenciones:** Se aplicó técnicas convencionales de microscopía electrónica de barrido a especímenes obtenidos por curetaje de pacientes con embarazo molar y de displasia mesenquimal placentaria. Los resultados fueron comparados con los de vellosidades normales. Ambos especímenes fueron obtenidos a mediados del segundo trimestre del embarazo. **Principales medidas de resultados:** Cambios en el estroma de las vesículas hidrópicas placentarias. **Resultados:** Se observó una compleja trama de células, paquetes de fibras de colágeno y matriz extracelular de tejido conjuntivo laxo, el cual fue observado en algunas regiones con células muy cercanas a otras. Se encontró cavidades de diversos tamaños en regiones de estroma más o menos denso, por desaparición de tejido estromal. Los espacios menores parecieron confluir y dar origen a otros mayores, hasta conformar una amplia cisterna central. En algunas vesículas, la región de estroma se desplazó hacia la periferia, por debajo de la capa interna trofoblástica, por crecimiento de la cavidad central, la cual aparecía vacía donde se había encontrado *in vivo* fluido intersticial. Se observó con frecuencia vesículas con amplios espacios vacíos, donde antes existía un estroma denso. **Conclusiones:** Los hallazgos informados dan una nueva visión tridimensional de los cambios provocados por la entrada de fluidos al estroma de vesículas hidrópicas placentarias, que terminan por mantener una estructura expandida o edematizada, lo cual nos lleva a un mejor entendimiento de la transformación hidrópica estromal.

Palabras clave: Transformación hidrópica, vesícula hidrópica, microscopía electrónica de barrido.

Oliver C Castejón S¹, Oliver C Castejón M²

¹ Profesor Titular en Biología Celular, Director del Centro de Investigación y Análisis Docente Asistencial del Núcleo Aragua (CIADANA), Laboratorio de Microscopía Electrónica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo - Núcleo Aragua, Maracay, Edo. Aragua, Venezuela
² Estudiante del 6to Año de la Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo - Núcleo Aragua-Maracay. Pasante del CIADANA, Venezuela

Correspondencia:

Prof. Oliver C Castejón S.

Centro de Investigación y Análisis Docente Asistencial del Núcleo Aragua (CIADANA), Maracay, Edo. Aragua, Venezuela. Apdo. 4944.

Correo electrónico: olivar.ciadanauc@gmail.com.

Tel.: 0243-2713305, Ext. 102, Fax: 0243-2713312.

Trabajo recibido el 24 de diciembre de 2009 y aceptado para publicación el 17 de febrero de 2010.

Rev Per Ginecol Obstet. 2010;56:44-49.

Scanning electron microscopy of placental villi hydropic transformation

ABSTRACT

Introduction: To investigate placental hydropic vesicles stromal transformation is important in determining pathophysiologic tissue alterations. **Objectives:** To describe hydatidiform mole and placental mesenchymal dysplasia tridimensional characteristics of villi stroma hydropic transformation. **Design:** Histopathologic study. **Biologic material:** Curettage specimens obtained from patients with molar pregnancy and placental mesenchymal dysplasia. **Interventions:** Conventional scanning electron microscopy stains were applied

to specimens obtained by curettage from patients with molar pregnancy and placental mesenchymal dysplasia. Results were compared with normal villi. Both specimens were obtained during the second trimester of pregnancy. **Main outcome measures:** Placental hydropic villi stromal changes. **Results:** A complex net of cells and bundles of collagen fibres associated to extracellular matrix of loose connective tissue were observed as well as regions with cells close to each other. Cavities of different size resulted from stromal tissue disappearance in dense stroma regions. Small spaces seemed to converge and constitute larger

ones until a central cistern was developed. In some vesicles the stromal region was displaced to the periphery below the trophoblast internal layer central cistern enlargement that appeared empty where interstitial fluid existed *in vivo*. Frequently vesicles with large empty spaces replaced dense stroma. **Conclusions:** These findings give a new tridimensional vision of changes produced by fluid entrance into hydropic vesicles stroma resulting in an edematous structure and give us a better understanding of stromal hydropic transformation.

Key words: Hydropic transformation, hydropic vesicles, scanning electron microscopy.



INTRODUCCIÓN

La degeneración hidrópica de la vellosidad placentaria origina tres anomalías de mal desarrollo vellositario: a) Hidrópica no molar, b) Hidrópica molar y c) Displasia mesenquimal placentaria ⁽¹⁾. Este cambio provocado por el edema afecta la estructura de la vellosidad a nivel del trofoblasto y del estroma donde forma pequeñas cavidades o cisternas. Las modificaciones que ocurren en el tejido estromal no dan formación de cisterna en la hidrópica no molar.

Observar los aspectos morfológicos del origen y desarrollo de estas cavidades, conocidas como microquistes en la patología placentaria ⁽²⁾ en casos de mola hidatidiforme o displasia mesenquimal placentaria, constituye el propósito de este estudio, en un esfuerzo por dilucidar la naturaleza de la transformación hidrópica que lleva a la formación de cisternas en el estroma de estas anomalías vellositarias.

Las características histológicas de vellosidades, en general, vistas con la microscopía electrónica de barrido (MEB) en casos de mola hidatidiforme y displasia mesenquimal han sido objeto de estudios previos en nuestro laboratorio ^(1,3,4). Un estudio previo detallado del estroma de la vellosidad molar con microscopía electrónica de barrido ⁽⁵⁾ ha reportado la disposición y distribución del mismo en una nueva visión tridimensional.

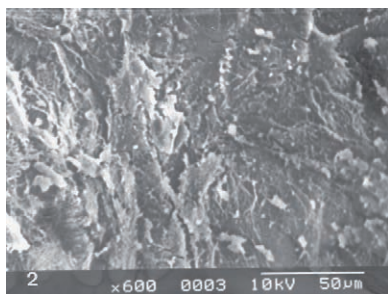


Figura 2. Región densa del estroma, en donde se observa miofibroblastos asociados a paquetes de fibras colágenas. La trama de células y fibras no deja espacios amplios entre ellas.

La MEB ha sido escasamente aplicada al estudio de la mola sobre una visión más real y con mayor profundidad de campo, dando un enfoque exactamente igual al existente in vivo, con una mejor imagen de conjunto. Esta visión del estroma, en la transformación hidrópica, nos dará un mejor entendimiento de los efectos del edema en vellosidades de mola o displasia mesenquimal. Es nuestra intención describir las características tridimensionales de la transformación hidrópica en el estroma de ambas anomalías utilizando las técnicas de MEB.

MÉTODOS

El material molar y el correspondiente a la displasia mesenquimal fueron obtenidos de especímenes por curetaje, de pacientes a mediados del segundo trimestre del embarazo, con diagnóstico de mola hidatidiforme y displasia mesenquimal placentaria; se realizó evaluación prenatal por ultrasonografía y análisis histopatológico, según indicaciones dadas en trabajos previos ^(1,3-5).

Los especímenes fueron analizados en su aspecto macroscópico con lupa estereoscópica Zeiss y en su aspecto microscópico usando tejidos incluidos en parafina, para su investigación histológica con la microscopía de luz. Secciones teñidas con hematoxilina y eosina, de 4 a 8 μm , fueron revisadas y comparadas con secciones de vellosidades de abortos a la misma edad gestacional, como control.

Otras secciones de 4 a 8 μm de material molar o displasia, obtenidas de la microscopía de luz, fueron llevadas para la observación al MEB según técnica de Boyde y Reid ⁽⁶⁾, modificada por Castejón ⁽⁷⁾. En esta modificación, la imagen es obtenida de electrones secundarios que rebotan de la mues-

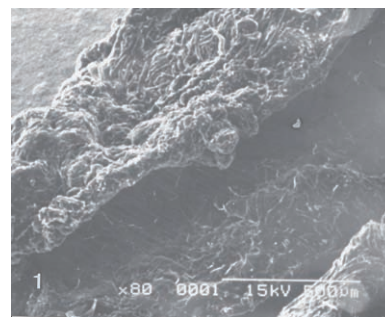


Figura 1. La microfotografía muestra una región amplia central casi vacía en cuyo fondo se observa paquetes de fibras colágenas. La superficie del trofoblasto muestra decoraciones que pertenecen a la hiperplasia.

tra, sin atravesarla, de acuerdo con la instrumentación del equipo de MEB empleado, Hitachi S2300. De esta manera, la misma lámina que se observó al microscopio de luz fue también observada con la MEB. Otros fragmentos de tejidos fueron procesados siguiendo los procedimientos convencionales de la MEB ⁽⁵⁾. El diagnóstico de vellosidad hidrópica correspondiente a mola hidatidiforme fue basado según el criterio de Szulman y Surti ⁽⁸⁾ y el de displasia mesenquimal según Paradinas y col ⁽⁹⁾; ambas anomalías de mal desarrollo vellositario producen espacios cisternales en el centro del estroma.

RESULTADOS

Se observó que la vesícula molar estaba constituida por un trofoblasto que presentaba elevaciones y depresiones, con numerosas decoraciones que exhiben la hiperplasia del mismo. A nivel del estroma había zonas donde el tejido parecía haber desaparecido; otras regiones se mostraban carentes de estructura y con numerosos paquetes de colágeno adosados a la superficie interna de la membrana basal del trofoblasto (figura 1).

Algunas vesículas mostraron un estroma relativamente relleno o compacto, constituido por un tejido conjuntivo que contenía una abundante red de fibras colágenas dispuestas en forma

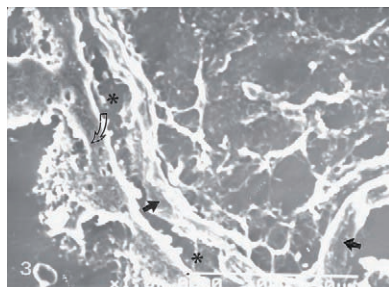


Figura 3. Corte histológico de 8 μ m visto con MEB; muestra región de trofoblasto (flecha curva), un espacio donde hubo edema subtrofoblástico (asteriscos) y región de membrana basal (cabezas de flecha). El estroma muestra espacios vacíos por degeneración tisular.

de una red densa o laxa, según sea la región (figura 2). En esta malla se observaba células mesenquimales y miofibroblastos. En otras regiones, los procesos de necrosis celular parecían iniciar la formación de pequeños espacios que al confluir iban formando espacios mayores, para posteriormente componer la cisterna central. Muchos miofibroblastos asociados a paquetes de fibras colágenas habían desaparecido o bien perdían sus conexiones, dejando espacios cada vez mayores entre ellos (figura 3).

El trofoblasto estaba separado de la intrincada trama de células y fibras del estroma, dejando un espacio subtrofoblástico, limitado por membranas celulares del trofoblasto y la membrana basal que sostenía a este, la que se observó asociada a la malla de tejido conjuntivo del estroma (figura 3). En zonas de la vesícula molar no se observaba la presencia de esta membrana basal, existiendo una continuidad entre el trofoblasto y el tejido conjuntivo del estroma (figura 4).

Las vesículas hidrópicas de displasia mesenquimal mostraron una gran cisterna central, la cual, al expandirse paulatinamente, dejaron una banda de estroma periférico y subtrofoblástico, en la cual se pudo notar cómo la trama de tejido denso iba perdiendo matriz extracelular y células, para formar cavidades cada vez mayores, hasta con-

formar un gran espacio que ocupaba casi toda la región estromal o cisterna central (figura 5). Una vesícula con estroma que exhibía una cisterna central rodeada de otras cavidades o cisternas más pequeñas puede ser notada en la figura 6. La vesícula de la displasia mesenquimal, de la misma forma, pudo verse externamente rodeada por un trofoblasto relativamente liso, con algunas irregularidades, y el interior de su estroma mostraba grandes espacios ubicados en el centro, que dejaban también una banda de tejido conjuntivo subtrofoblástico, la cual rodeaba a la cisterna central (figura 7).

DISCUSIÓN

Una visión tridimensional de la transformación hidrópica con la técnica de MEB ha sido presentada, en vesículas correspondientes a mola hidatidiforme y displasia mesenquimal, indicando que la progresiva formación de la cisterna central es común a ambas anomalías. Se desconoce los mecanismos que subyacen a la fisiopatología de la transformación hidrópica.

Con la microscopía electrónica de transmisión (MET) a nivel del sincitiotrofoblasto, en mola hidatidiforme se ha evidenciado la presencia de numerosas microvellosidades en la membrana celular asociadas con vesículas de pinocitosis, espacios intracelulares que facilitan el pasaje de líquidos y numerosos pliegues de la membrana trofoblástica basal que intervienen en el transporte de agua, siendo el hinchamiento hidrópico dependiente de la actividad del trofoblasto⁽¹⁰⁾. Esta microscopía no ha podido revelar el paso de sustancias a través de la membrana basal en vellosidades normales de 20 a 21 días, ni en vellosidades molares. Se ha sugerido que, al ocurrir la total transformación hidrópica en cada una de las

vellosidades, quedan con escaso flujo sanguíneo entre ellas y las variaciones de presión en el espacio intervelloso crean una presión negativa en el interior de la vesícula, que provoca la entrada del flujo sanguíneo o del plasma intersticial.

En estas condiciones de hipoxia o isquemia, la membrana basal que sostiene al trofoblasto tiende a incrementar su grosor⁽⁵⁾ y permanece impermeable. Grietas a nivel de la superficie del trofoblasto e interrupciones de esta membrana contribuyen con la entrada de fluido hacia el estroma. Engrosamientos, interrupciones, extensas zonas de membranas basales ausentes y bifurcaciones de la misma han sido encontradas con técnicas histoquímicas de ácido periódico Schiff (PAS), Bodian, Jones y v Kossa en material molar⁽¹¹⁾, así como, orificios en la membrana basal del trofoblasto de vesícula de displasia mesenquimal con la MEB⁽⁴⁾.

El material hallado con aspecto de líquidos en movimiento y entremezclado con regiones de estroma en un trabajo previo, revela que el plasma sanguíneo materno ha penetrado hacia el interior⁽⁵⁾. La presencia en la displasia de vasos notorios en el estroma hace inadecuada la teoría de que la acumulación de fluido en la vesícula hidrópica sea producto de la falta de drenaje por la ausencia de vasos⁽³⁾.

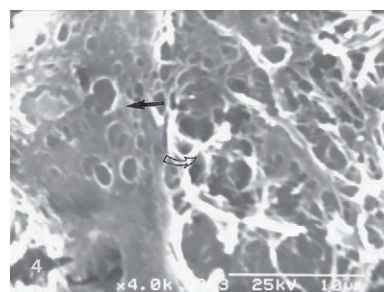


Figura 4. Corte similar al de la figura anterior, donde no hay delimitación que separe el trofoblasto (flecha recta) de la región estromal (flecha curva). Ambas estructuras semejan estar en forma continua.



El edema de las vesículas las mantiene comprimidas unas a otras y esta compresión sostenida pudiera generar un mecanismo de disolución de la matriz estromal, similar al que ocurre en el cordón umbilical cuando la gelatina de Wharton disminuye por un efecto mecánico de compresión del mismo (4). El estímulo que inicia la desaparición o necrosis de células estromales es un misterio.

Probablemente, con respecto a la matriz extracelular donde estas células flotan, el trofoblasto con actividad de metaloproteinasas estimule a miofibroblastos y macrófagos estromales a sintetizar estas sustancias y en consecuencia la matriz extracelular estromal se degrada, originándose el inicio de la cisterna. Por otro lado, otros autores han observado grandes macrófagos conteniendo material positivo al azul alcian dentro de vacuolas citoplasmáticas, indicando que tales células participan en este proceso (12). Glucosaminoglucanos del tipo hialuronano constituyen parte de la matriz extracelular en la cual están las células estromales y representan las macromoléculas localizadas en los grandes macrófagos. Estos son polianiones que se unen a policationes, como Na y K (13), los cuales se unen a proteoglicanos que interactúan con las fibras colágenas del estroma, resultando un complejo que puede tener una gran

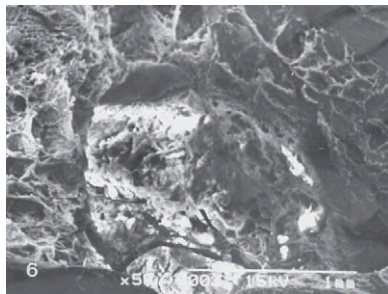


Figura 6. La región central de la fotomicrografía está ocupada por una gran cisterna central rodeada por región estromal, con cavernas mucho más pequeñas, indicando que la formación de la cisterna desplaza en forma centrifuga al estroma original. Displasia mesenquimal.

masa molecular de hasta ciento de millones de daltons, con la propiedad de atraer una gran proporción de agua que queda atrapada en sus dominios. Este complejo constituye el gel de la matriz extracelular (4). No sabemos si el trofoblasto induce a miofibroblastos del estroma a sintetizar cantidades masivas de hialuronano.

El fluido que provoca el edema en estas vesículas pudiera estar penetrando desde el espacio interveloso por la vía transcelular, a través de la membrana plasmática del sincitio, por tapones de fibrina que permiten el paso de macromoléculas o canales transtrofoblásticos de 20 nm, como túbulos limitados por membranas desde la superficie apical del sincitio hacia la basal (2), mediado por fuerzas osmóticas e hidrostáticas (14).

Con el descubrimiento de proteínas transmembranales, organizadas en forma tetramérica, formadoras de poros acuosos en las membranas plasmáticas, se ha podido explicar la dinámica del transporte de agua en estas membranas biológicas sometidas a permanentes fluctuaciones osmóticas. La definición de acuoporinas (AQP) dadas a ellas favorece el mejor entendimiento de lo que está ocurriendo en la transformación hidrópica. Las AQP en medio ácido se cierran y en medio básico se abren. Las AQP1 se localizan en endotelios de la placenta, las AQP3 en el sincitio y las AQP8 en el amnios. A través de la vía intramembranosa, desde la cavidad amniótica hacia el estroma de la vellosidad se absorbe agua con las AQP8 y AQP1. Activadas las AQP3 en el sincitio el fluido pasa al estroma y, al llegar a la membrana basal del vaso, las AQP1 del endotelio sacan el fluido hacia el espacio interveloso. Si existe una condición de acidosis que inactive las AQP3, AQP8 y AQP1, el

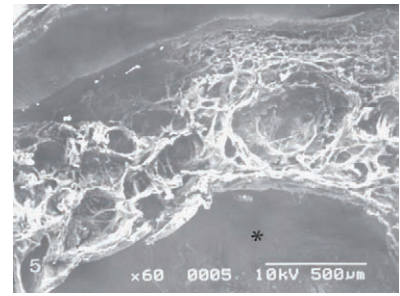


Figura 5. Región desplazada hacia la periferia del trofoblasto, mostrando espacios pequeños que, a medida que degeneran células y fibras entremezcladas, los espacios se hacen cada vez más grandes. El asterisco indica la gran cisterna central. Displasia mesenquimal.

líquido queda retenido y la vellosidad permanece edematizada o hidrópica. Esto realmente ocurre cuando la vellosidad está isquémica o hipóxica, como las aquí presentadas (14).

Este tipo de estudio que evalúa histopatológicamente a estas anomalías del embarazo es de importancia en el análisis de rutina de productos de abortos espontáneos del primer trimestre (15). La vesícula vaciada en su interior ha tenido que desorganizar su estructura interna para dejar paso al fluido entrante. Durante el desarrollo de la vesícula molar, en los periodos tempranos del embarazo, son frecuentes la cariorrexis y la aumentada apoptosis, que afecta la vasculogénesis y a las células estromales, dejando espacios para la ubicación de fluidos (16). La presencia de colágeno I, III, IV, V en el estroma sufre variación en los procesos de distribución, encontrándose una disminución de los tipos I, III y V (17) y una sobreexpresión de colágeno IV (18) en vesículas de material molar, lo que sugiere su participación en la patofisiología y estructura de la vesícula molar.

En conclusión, una nueva visión tridimensional de los cambios provocados por la entrada de fluidos al estroma de vesículas hidrópicas placentarias ha sido mostrada con la MEB, la cual exhibe y permite explicar las modificaciones ocurridas a nivel del estroma, el cual se edematiza.

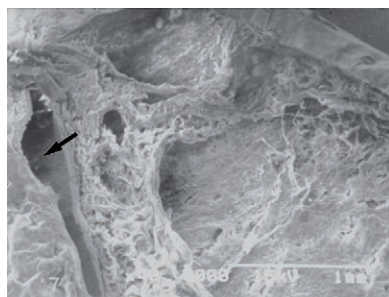


Figura 7. Un vaso ha sido desplazado hacia la periferia subtrofoblástica (flecha), asociado a una banda de estroma que limita la cisterna central. Displasia mesenquimal.

AGRADECIMIENTOS

A la Coordinación Administrativa de la Facultad de Ciencias de la Salud del Núcleo Aragua por el fondo fijo institucional para el CIADANA. Al personal médico del Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Central de Maracay y del Hospital 'Carabaño Tosta' del IVSS y a la T.S.U. Laury R Gutiérrez S por transcribir el manuscrito.

REFERENCIAS

BIBLIOGRÁFICAS

- Castejón S OC, Molina VR, Rivas A AE, Aguirre O, Graterol S IJ. La variabilidad morfológica de la vellosidad placentaria hidrópica. *Gac Med Caracas*. 2002;110:210-6.
- Bernirschke K, Kaufmann P. *Pathology of the human placenta*. 4th Edition. New York: Springer-Verlag; 2000.
- Castejón S OC, Molina VR. Microscopía electrónica de barrido de la vellosidad placentaria hidrópica. Caso clínico. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2002;62:133-9.
- Castejón S OC, De Yeguez M, Rivas M, Quiroz D, Rivas A AE, Yeguez F. Observaciones en la hiperplasia mesenquimal placentaria con el microscopio electrónico de barrido. *Gac Med Caracas*. 2006;114:27-33.
- Castejón S OC, Belouche CR, De Castejón VM. Microscopía electrónica de barrido del estroma de la vellosidad molar. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 1998;58:17-22.
- Boyde A, Reid A. A new method of scanning electron microscopy for imaging biological tissue. *Nature*. 1983;302:522-3.
- Castejón OC, Robles N, De Castejón VM. La vellosidad placentaria en meoanencefalia. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 1999;59:251-6.
- Szulman A, Surti U. The syndrome of the hydatidiform moles: Morphologic evolution of the complete and partial mole. *Am J Obstet Gynecol*. 1978;132:20-7.
- Paradinas FJ, Sebire NJ, Fisher RA, Rees HC, Foskett M, Secri MJ, et al. Pseudo-partial moles: Placental stem vessel hydrops and the association with Beckwith-Wiedemann syndrome and complete moles. *Histopathology*. 2001;39:447-54.
- Wynn RM, Davies J. Ultrastructure of hydatidiform mole: correlative electron microscopy and functional aspects. *Am J Obstet Gynecol*. 1964;90:293-307.
- Scucces MG, Castejón OC. Lesiones predictivas de malignidad en la membrana basal de mola hidatidiforme. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2006;66:151-8.
- Moscoco G, Jauniaux E, Hustin J. Placental vascular anomaly with diffuse mesenchymal stem villous hyperplasia. A new clinico-pathological entity. *Pathol Res Pract*. 1991;187:324-8.
- Jauniaux E. Partial moles: From postnatal to prenatal diagnosis. *Placenta*. 1999;20:379-88.
- Castejón OC, Ali SK, Canache CL. El edema de la vellosidad placentaria en los casos de muerte fetal. *Gac Med Caracas*. 2006;114:291-9.
- Tasci Y, Dilbaz S, Secilmis O, Dilbaz B, Qzfuttu A, Haberal A. Routine histopathologic analysis of product of conception following first-trimester spontaneous miscarriages. *J Obstet Gynecol Res*. 2005;31:579-82.
- Kim MJ, Kim KR, Ro JY, Lage JM, Lee HI. Diagnostic and pathogenetic significance of increased stromal apoptosis and incomplete vasculogenesis in complete hidatidiforme moles in very early pregnancy periods. *Am J Surg Pathol*. 2006;30:362-9.
- Iwahashi M, Muragaki Y, Ooshima A, Nakano R. Decreased type III y V collagen expression in chorionic villi of hydatidiform mole *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:3346-50.
- Iwahashi M, Muragaki Y, Ooshima A, Nakano R. Over expression of type IV collagen in chorionic villi in hydatidiform mole *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:2649-52.