

**CASO CLINICO**

**Microscopía Electrónica de Barrido de la vellosidad placentaria en la malformación de Chiari tipo II.**

Olivar C Castejón S<sup>1</sup> , Daniel Quiroz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Análisis Docente Asistencial del Núcleo Aragua (CIADANA). Facultad de Ciencias de la Salud. Laboratorio de Microscopía Electrónica.

<sup>2</sup>Laboratorio de Anatomía Patológica, Clínica "La Coromoto ", Maracay-Aragua.

**Correspondencia:** Olivar C Castejón.  
Apdo.Postal 4944, Maracay, Venezuela

E-mail: Olivar\_ciadanauc@hotmail.com  
Telf.: + 58-243-2713305. Ext. 102.  
Fax: + 58-243- 2713312.

**Recibido:** Enero 2005

**Aprobado:** Junio 2005

---

**RESUMEN**

**Microscopía Electrónica de Barrido de la vellosidad placentaria en la malformación de Chiari tipo II.**

Nuestro propósito es el de evaluar la morfología de la vellosidad placentaria en un caso de malformación de Chiari tipo II, diagnosticada ultrasonográficamente antes del nacimiento, para determinar variaciones de forma o tipo de ramificación, como las encontradas cuando existe un cariotipo anormal, según datos de la literatura, utilizando la microscopía electrónica de barrido y análisis previo con microscopía de luz. La malformación de Chiari es una hidrocefalia congénita comunicante, que coexiste con trisomías del par 13 o 18 y meningomielocelo. Las alteraciones cromosómicas no solamente implican anomalías morfológicas características en embriones o fetos sino también en las vellosidades placentarias. Los resultados obtenidos de una placenta de una paciente de 24 semanas de gestación complicada con muerte neonatal confirman vellosidades troncales, intermedias maduras e inmaduras y vellosidades terminales

originándose de intermedias maduras que fueron rastreadas sin observarse modificaciones en el patrón morfológico normal o su ramificación, cuando se comparan con vellosidades normales de la misma edad gestacional. La superficie de las vellosidades se mostraron lisas, con escasas microvellosidades. No se encontraron variaciones con respecto al diámetro de los diferentes tipos de vellosidades. La deposición de fibrinoide es similar a la normal. No se observó hiperplasia del trofoblasto ni cambios en los elementos estromales. Los resultados reportan la inmadurez vellosa confirmada previamente con microscopía de luz, con retraso en la maduración del árbol vellosa. Estas imágenes muestran una visión tridimensional de la vellosidad con inmadurez persistente, ligeramente asincrónica, sin la expresión de alguna anomalía morfológica específica indicativa de algún cariotipo anormal, proporcionando una mayor confianza al histopatólogo en la evaluación completa de la vellosidad en esta malformación.

**Palabras clave:** Microscopía electrónica de barrido, vellosidad placentaria, malformación de Chiari.

### **ABSTRACT**

#### **Scanning Electron Microscopy of the placental villi in Chiari type II malformation**

Our purpose was to evaluate the morphology of the placental villi, in a case of Chiari type II malformation, diagnosed before birth with ultrasonography, for determining variations of form or types of villous branching as found when there is abnormal karyotype, according to literature, using scanning electron microscopy and previous analysis with light microscopy. Chiari malformation is an inherited communicant hydrocephaly that coexists with trisomies 13 or 18 and myelomeningocele. The chromosomal abnormalities not only are associated with embryo or fetus but also with placental villi. The results obtained of a placenta of patient at 24 weeks of gestation complicated with neonatal death confirm the presence of stem villi, intermediate and terminal villi which were observed without nothorious changes in their form or branching when they are compared with villi at the same week of gestation. The surface of the villi were smooth with scarce microvilli. No variations with respect to the diameter of the types of villi were observed. The fibrin deposition was similar to that observed in normal conditions. Neither trophoblast hyperplasia nor stromal changes were seen. These findings indicated persistent villous immaturity, retarded maturation of the villous tree and scarce variations of the features of placental villi which were not predictive of an abnormal karyotype. This three-dimensional view of the cytoarchitecture of the villi provides greater confidence to the histopathologist in his/her evaluation of the complex structure of the villous tree in this malformation.

**Key words:** Scanning electron microscopy, placental villi, Chiari malformation.

### **INTRODUCCION.**

Las malformaciones cráneo-cervicales comprenden un conjunto de alteraciones anatómicas de la región que une al cráneo y la columna

vertebral. En ocasiones se originan de forma secundaria a otro proceso, en la mayoría de casos su origen es congénito y se deben a problemas del desarrollo embrionario. Cuando el descenso de las amígdalas del cerebelo se acompaña de una elongación del IV ventrículo y del tronco del encéfalo, de modo que también quedan parcialmente situadas en la parte alta del canal cervical, la malformación de Chiari es de tipo II y aparece casi constantemente en pacientes con espina bífida (1).

Los numerosos estudios realizados en Venezuela y otros países sobre malformaciones, en general, según se reporta en otro estudio (2), describen los aspectos anatomopatológicos fetales, los factores etiológicos, los tipos de éstas, métodos de diagnóstico, análisis de laboratorio y datos clínicos o epidemiológicos. En ellos las anomalías cráneo-cervicales no se han reportado asociadas a las alteraciones de la placenta. La amplia literatura encontrada sobre la malformación de Chiari ha cubierto muy poco su relación con el embarazo. La literatura que reporta la vellosidad placentaria asociada con malformaciones del sistema nervioso central es también muy escasa (2). Las causas exactas de esta malformación y su incidencia se desconocen.

El estudio tridimensional de las vellosidades placentarias en la malformación de Chiari tipo II reviste particular importancia para determinar, mediante esta técnica, si hay cambios en su morfología. Se conoce que trisomías del par 13 o 18 coexisten con la malformación y meningocele (3). Las vellosidades pueden ser afectadas en su estructura y función por un cariotipo anormal (4). Así, por ejemplo, se encontró engrosamiento veloso esférico localizado y degeneración del sincitio, en los casos de trisomía del par 16. Si bien nuestro caso no tiene estudio del cariotipo, se pretende emplear la técnica de microscopía electrónica de barrido (MEB) para determinar si existen variaciones en los rasgos histomorfológicos de la vellosidad, similares a los existentes en los casos de algunos fetos trisómicos reportados en la literatura. Bajo la premisa de una correlación entre la morfología de la vellosidad placentaria y el cariotipo fetal, la cual se describe en la literatura (4-7), nos proponemos evaluar la vellosidad en este caso de malformación de Chiari tipo II, con la técnica de MEB.

### **MATERIALES Y METODOS.**

Las muestras fueron tomadas de la placenta, de una paciente de 26 años, a las 24 semanas de gestación, a quien se le determinó por ultrasonografía, placenta grado I, con el diagnóstico prenatal fetal de malformación de Chiari tipo II y meningocele (8). La historia clínica reportó muerte del neonato inmediatamente después del parto, neonato con pie varo y sin ninguna otra aparente malformación. No hubo determinación del cariotipo en el neonato. Se examinaron 50 láminas de tejido placentario con la tinción de H-E, de diez regiones diferentes que abarcan placa coriónica y basal, según la metodología descrita en trabajo preliminar (2). Se siguió un protocolo de observación en base al número de ramificaciones que sobresalen del contorno de una sección de corte transversal de una vellosidad intermedia inmadura (vii), número de brotes sincitiales, diámetro de la vellosidad medida con la barra, en micras, incorporada en la pantalla de observación del MEB, número de vasos estromales en vellosidades intermedias maduras (vim) y terminales, la deposición de fibrina y otros rasgos observados. El diagnóstico microscópico se realizó observando previamente al microscopio de luz (ML), con el objetivo de 10x los rasgos

arriba mencionados en 10 (o más de 10) vellosidades, en diez o más campos, de tres o más cotiledones. Las láminas observadas contenían de tres a cinco cortes seriados. Biopsias de las mismas regiones fueron tomadas para ser procesadas con las técnicas convencionales de la MEB, siguiendo los procedimientos señalados en un trabajo anterior (9).

### RESULTADOS.

Una visión tridimensional de vellosidades troncales, vellosidades intermedias inmaduras y maduras, así como vellosidades terminales en el inicio de su desarrollo originándose de intermedias maduras, fueron rastreadas con el MEB (Fig.1). La superficie de las vellosidades, cuando se utilizan elevadas magnificaciones, se mostró lisa, con pocas microvellosidades (Fig.2). El número de ramificaciones saliendo de vellosidades intermedias inmaduras puede llegar hasta 14. No se observó irregularidad en la forma de ramificación. El número de brotes sincitiales es el que corresponde de acuerdo con las 24 semanas de desarrollo. No hay variación con respecto al diámetro de la vellosidad cuando se compara con los diámetros de la normal, a la misma edad de gestación (Fig.3).

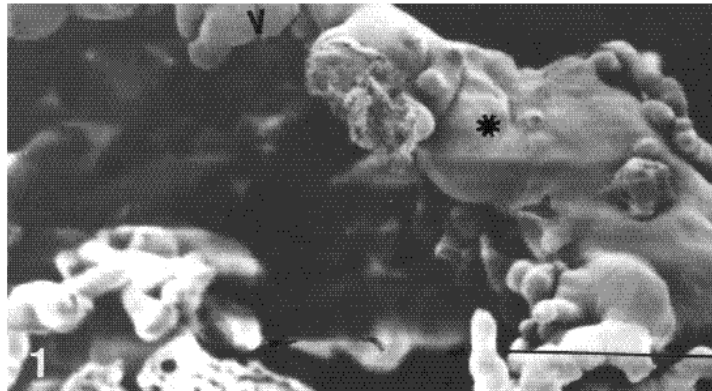


Fig. 1.- Una vii (\*) proyectando una vim (V) hacia el lado izquierdo de la micrografía, de la cual, a todo lo largo de ella, brotan vellosidades terminales. Barra: 300  $\mu$ m.



Fig. 2.- Ampliación de la superficie de una región de vii con escasas microvellosidades. Una vellosidad mesenquimal se observa (flecha). La superficie (\*) muestra pliegues, orificios y fisuras. Se nota una vim (cabeza de flecha)

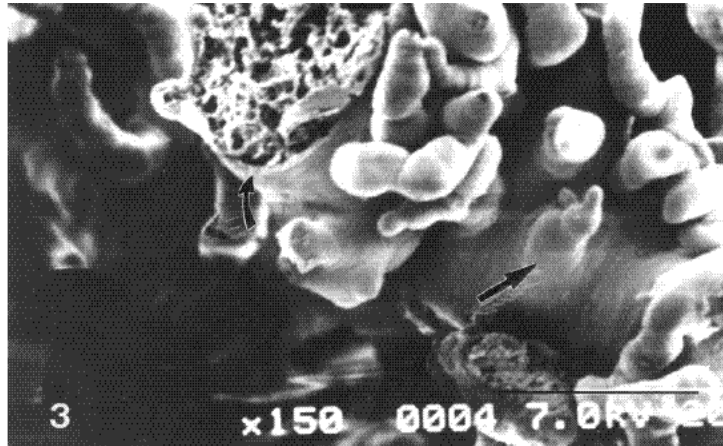


Fig. 3.- Se observan ramificaciones de vellosidades de una vii, la cual destaca parte de su estructura interna. El trofoblasto se nota delgado (flecha curva). Varios brotes mesenquimales (flecha recta) que se continúan con brotes trofoblásticos son notorios. Barra: 200  $\mu$ m.

La deposición de fibrina sobre la superficie del trofoblasto no sufre cambios con respecto a la encontrada en el control. No se nota hiperplasia del trofoblasto como la observada en los casos de mola hidatidiforme. No más de 5 o 6 secciones de capilar por cada estroma fueron vistos, ni invaginaciones del trofoblasto hacia el estroma y algunas vellosidades muestran una compacta red de células y elementos de la matriz extracelular estromal sin vasos capilares (Fig.4). Los vasos se observan según el grado de desarrollo de la vellosidad, unos ubicados en el centro del estroma y otros cercanos al trofoblasto. No hubo anomalía alguna en la estructura vascular. Se notó cierto grado de desorganización estromal, en algunas vellosidades, con grandes espacios indicando edema hidrópico, (Fig.5).

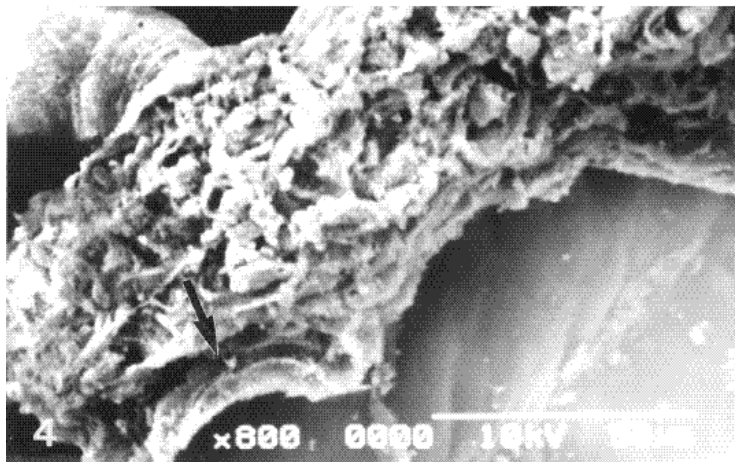


Fig. 4.- Corte a todo lo largo de una vii en la cual se observan los canales estromales (flecha). Los elementos que componen el estroma se exhiben en una compleja y apretada red.

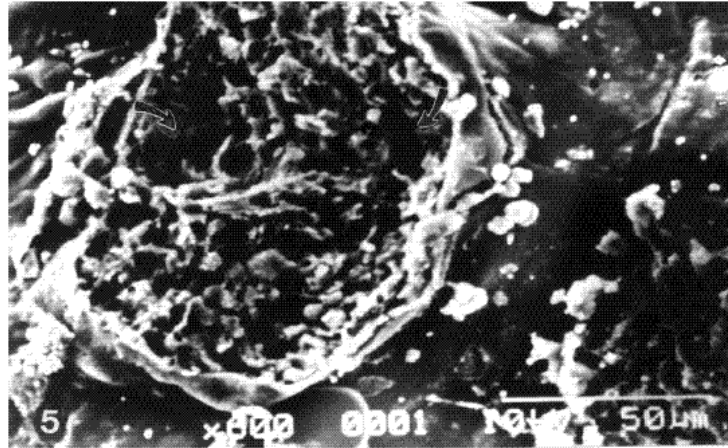


Fig. 5.- Corte transversal de vellosidad ancorante penetrando la superficie de la placa basal. Las flechas indican regiones que correspondieron a zonas de líquido intersticial "in vivo" en el interior del estroma.

Las vii (Fig.6) se observaron ancladas a la placa basal. Extensas áreas de esta región está tapizada por vii. A medida que las vii se ramifican, en forma dicotómica, su diámetro disminuye y aparecen surcos o pliegues sobre la superficie del trofoblasto (Fig.7). En esta semana de gestación las vii se caracterizan por producir vim, ligeramente curvas que finalmente habrán de originar las vellosidades terminales para el intercambio de gases y nutrientes.

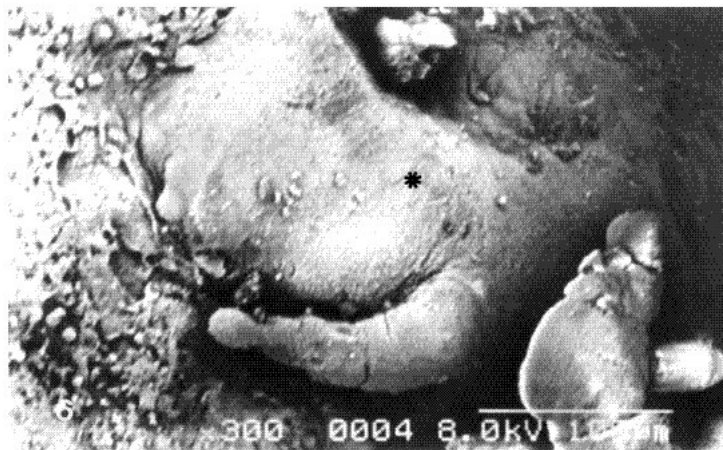
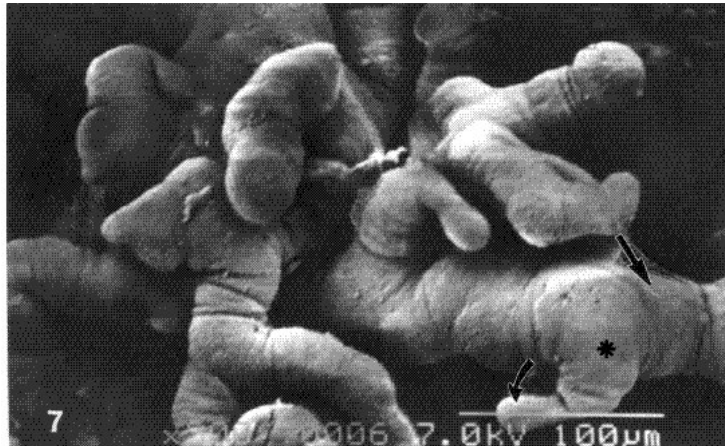


Fig. 6.- Sobre la superficie de la placa basal que mira hacia el espacio intervilloso, una amplia vii (\*) con una ramificación, tapiza dicha zona.



**Fig. 7.-** La flecha recta indica una villi de la cual parte una mesenquimal (\*) que termina en un borde sincitial (flecha curva)

### DISCUSION.

Esta es la primera documentación que asocia la morfología de la vellosidad placentaria con la hidrocefalia congénita comunicante conocida como malformación de Chiari tipo II (8). Numerosos autores en el pasado se han esforzado por identificar rasgos morfológicos en la vellosidad y relacionarlos con hallazgos citogenéticos (10). Otros han sugerido, en base a los cambios patológicos encontrados, tan característicos, el diagnóstico cromosómico de la única observación del tejido veloso placentario (11). Algunos, por el contrario, no han encontrado una buena correlación entre hallazgos citogenéticos y morfología de la vellosidad. Esto ha originado una intensa controversia para demostrar si hay alguna correlación entre la morfología de la vellosidad y el cariotipo. En vista de que la malformación de Chiari puede coexistir con trisomía del par 13 ó 18, nos inclinamos a buscar algún carácter en la morfología de la vellosidad que fuese indicativa de la presencia de cariotipo anormal, según los criterios para la clasificación de la vellosidad placentaria mediante MEB (5). Así, por ejemplo, vellosidades con muy pocos depósitos de fibrina sobre su superficie, escasos brotes sincitiales, con escasas ramificaciones, uniforme cobertura del trofoblasto con microvellosidades y diámetro a menudo cilíndrico son propios de una trisomía o de algunos casos de euploidia (5).

Según la revisión de la literatura, en esta discusión, podemos inferir y proponer que existen cuatro condiciones para el análisis de la morfología de la vellosidad y su cariotipo, vellosidades con:

- 1) morfología normal y cariotipo normal;
- 2) morfología anormal y cariotipo anormal.
- 3) morfología anormal y cariotipo normal.
- 4) morfología normal y cariotipo anormal.

La primera condición la encontramos en nuestros controles, la cual es variable según la edad gestacional. La segunda es la encontrada por Röckelein y col. (5); quienes con técnica de MEB y determinaciones del cariotipo encuentran vellosidades con mucha deposición de fibrina, escasos

brotos sincitiales, áreas localizadas de denudación trofoblástica, vellosidades alargadas con escasa ramificación en los casos de cariotipo con euploidia y en algunas trisomías. La tercera fue reportada por Paradinas y col (13) describiendo vellosidades hidrópicas con displasia mesenquimal placentaria (14) la cual se confunde con el diagnóstico de una mola parcial. La cuarta condición esta descrita por Benirschke y Kaufmann (15) en una tetrasomía del cromosoma 12, anomalía letal con vellosidades normales. Otro ejemplo sería el mosaicismo confinado a la placenta donde no hay variación histológica de la vellosidad.

Los resultados aquí presentados confirman lo sostenido con ML (2) y no reflejan las variaciones morfológicas provocadas por la existencia del cariotipo anormal. Las anomalías o alteraciones observadas en casos de trisomías suelen ser las siguientes: abundantes o escasos brotes sincitiales, poca ramificación vellosa, escasa deposición de fibrina sobre la superficie vellositaria (5), reducción del número de capilares estromales, vellosidades delgadas, con diámetro de secciones transversales pequeño (16), proliferación de células del estroma o trofoblásticas (17), anomalías vasculares, estroma hialinizado e inmadurez vellosa. Estos rasgos no son específicos de la trisomía porque algunos de ellos pueden encontrarse en casos de monosomía o euploidia (5).

No teniendo nuestro caso una determinación cariotípica de las vellosidades, quisimos averiguar si las vellosidades en la malformación de Chiari tenían un tipo de ramificación que no siendo vista con la ML, pudiera ser detectada con la MEB. Una ramificación tricotómica (hipotética) utilizando secciones bidimensionales de 5  $\mu$ m pasaría desapercibida con el uso de ML pero puede ser captada por la MEB.

En una trisomía 16, los brotes sincitiales, por ejemplo, pueden observarse con la ML en un número entre 1 a 3 por cada sección de vellosidad, pero observando la vellosidad completa, en forma tridimensional, abarcando una mayor superficie, con una mayor profundidad de campo, los brotes que se observan pueden sobrepasar los 40 (5).

Por otro lado, los cambios anotados anteriormente referidos a las trisomías son variables y se pueden observar vellosidades de amplio calibre, con numerosos vasos sanguíneos y sin cambios fibrohialínicos en el estroma (18). En nuestro trabajo todas estas modificaciones no fueron captadas por la MEB ni por ML. Podríamos pensar que estamos en la condición 1. No obstante, hay la posibilidad de estar en la condición 4. De aquí inferimos la necesidad imperiosa de realizar cariotipo al feto y a la placenta en caso de alguna malformación. Pero no todas las muestras enviadas a cultivo resultan exitosas en el análisis cromosómico. Cuando se acepta material para cariotipo la determinación del mismo no está garantizada (10). De manera que en esta circunstancia no habrá respuesta definitiva, quedando como el caso que se analiza. Los avances en la tecnología del ADN recombinante ofrece la posibilidad del uso de sondas con especificidad cromosómica para las trisomías 13 o 18. Sondas génicas para identificar el número de copias de un cromosoma de células en interfase, sin necesidad de cultivarlas, pudiera resolver la problemática (19).

La adicional consideración de la estructura tridimensional de la vellosidad coloca al patólogo en una mayor confiabilidad en la evaluación de vellosidades afectadas por alteraciones cromosómicas. Que la precisa



anormalidad citogenética pueda ser determinada mediante observación microscópica ha sido una aspiración de muchos investigadores y motivo de extenso debate. No queremos dar a entender que un cariotipo anormal específico pueda ser pronosticado de la morfología placentaria pero si de la utilidad que brinda la MEB, asociada con ML, en mejorar el diagnóstico en los casos de previa comprobación de la anormalidad genética mediante otras técnicas.

Los resultados aquí reportados, previamente confirmados con ML, indican inmadurez vellosa en aproximadamente cuatro semanas y media (2) y retraso en la maduración del árbol vellosa. Las vii, observadas con MEB, permanecen originando una inmadurez vellosa persistente que por tener ese retraso, cuando se comparó con el árbol vellosa de igual edad gestacional, resultó ser ligeramente asincrónica.

En conclusión, imágenes obtenidas con la MEB muestran una visión tridimensional de la vellosidad con inmadurez persistente, ligeramente asincrónica, sin la expresión de anomalías morfológicas específicas que indicaran cariotipo anormal, proporcionando de esta manera una mayor confiabilidad al histopatólogo en la evaluación completa de la vellosidad placentaria.

**Agradecimientos.** Al Dr. Luis Alcalá, Dpto. de Obstetricia y Ginecología del Hospital Central de Maracay por facilitar el material de estudio y al personal de la oficina de archivos de historias clínicas por proveer los datos.

**Financiamiento:** Fondo Fijo Institucional de la Coordinación Administrativa de la Fac. Cs. de la Salud-Núcleo Aragua para el CIADANA.

## BIBLIOGRAFIA

1. Klekamp J, Samii M. Introduction of score sytem for the clinical evaluation of patients with spinal processes. *Acta Nuerochir Suppl (Wien)*. 1992; 123: 221-223.
2. Castejón OC, Molinaro M, Quiroz D. La vellosidad placentaria en la malformación de Chiari tipo II. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2005; 65: 23-28.
3. Gilbert-Barness E.(1997). *Potter's Pathology of the fetus and infant*. Vol I. Mosby-Year Book, St Louis, 388-432.
4. Rochelson B, Kaplan C, Guzman E, Arato M, Hausen K, Trunca C. A quantitative analysis of placental vasculature in the third-trimester with autosomal trisomy. *Obstet Gynecol*. 1990; 75: 59-63.
5. Rockelein G, Ulmer R, Schwille R. Surface and branching of placental villi in early abortion: relationship to karyotipe. *Scanning electron microscopy study*. *Virchow Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1990; 417: 151-158.
6. Jauniaux E, Hustin J. Chromosomally abnormal early ongoing pregnancies: correlation of ultrasound and placental histological findings. *Human Pathol*.1998; 29:1195-1199.
7. Sebire NJ, Fowler D, Roberts L, Mahmood S, Nicolaides KH. Short communication: trophoblast proliferation is increased in chorionic villi from pregnancies with fetal trisomy 18. *Placenta* 2000; 21: 584-586.

8. Tumor-Tristch IE, Monteagudo A, Cohen HL.(2004) Neuroecografía Prenatal y Neonatal. Marbal Libros SL, Madrid, 151-158.
9. Castejón, OC. La citoarquitectura de la placa basal de la placenta humana. *Salus* 1999; 3: 27-32.
10. Novak R, Agamonolis D, Dasn S, Igel H, Platt M, Robinson H, et al. Histologic analysis of placental tissue in first trimester abortions. *Pediatr Pathol* 1988; 8: 477-482.
11. van Lijnschoten G, Arends JW, Leffers P, De La Fuente A, Van Der Looij HJ, Geraedts JP. The value of histomorphological features of chorionic villi in early spontaneous abortion for the prediction of karyotipe. *Histopathology*.1993; 22: 557-563.
12. Horn LC, Rosenkranz M, Bilek K. Wertigkert der plazentahistologie fur die erkennung genetish be dingter aborte. *Z Geburtshilfe Perinatol*. 1991; 195: 47-53.
13. Paradinas FJ, Sebire NJ, Fisher RA, Rees HC, Foskett M, Secki MJ; et al. Pseudo-partial moles: placental stem vessel hydrops and the association with Beckwith-Wiedemann syndrome and complete moles. *Histopathology* 2001; 39: 447-454.
14. Jauniaux E, Nicolaides KH, Hustin J. Perinatal features associated with placental mesenchymal dysplasia. *Placenta* 1997; 18; 701-706.
15. Benirschke K, Kaufmann P. (2000). *Pathology of the human placenta*. 4<sup>th</sup> edition. Springer-Verlag, New York, 685-687.
16. Roberts L, Sebire NJ, Fowler D, Nicolaides KH. Histomorphological features of chorionic villi at 10-14 weeks of gestation in trisomic and chromosomally normal pregnancies. *Placenta*. 2000; 21: 678-683.
17. Qumsiyeh MB, Kim KR, Ahmed MN, Bradford W. Cytogenetics and mechanisms of spontaneous abortions: increased apoptosis and decreased cell proliferation in chromosomally abnormal villi. *Cytogenet Cell Genet* 2000; 88: 230-235.
18. van Lijnschoten G, Arends JW, Geraedts JP. Comparison of histological features in early spontaneous and induced trisomic abortions. *Placenta* 1994; 15: 765-773.
19. Gosden CH. Diagnóstico genético, biopsia de vellosidades coriónicas y mosaicismo placentario. En: Redman CWG, Sargent IL, Starkey PM, editores.(1995). *La placenta humana. Guía para perinatólogos*. Masson SA, 87-120.