Gac Méd Caracas 2002;110(4):504-511

Vasculogénesis en la vellosidad placentaria humana de nueve semanas

Drs. Olivar C Castejón S*, Maria G Scucces M**, Alba E Rivas A***, Rafael Molina Vílchez****

RESUMEN

Perturbaciones en el desarrollo vascular placentario demostrado por reducida ramificación capilar vellosa y alteraciones en la expresión de factores angiogénicos han estado asociados con aborto, preeclampsia, retardo del crecimiento intrauterino y diabetes. Esta influencia negativa sobre el desarrollo fetal amerita el estudio urgente y detallado de la formación de vasos intravellositarios mediante técnicas de hematoxilina-eosina. Especímenes fueron tomados de un aborto, terapéutico de nueve semanas de gestación exactamente fechada según fecha de última menstruación y datos ultrasonográficos.

Los resultados revelan vellosidades intermedias inmaduras, troncales y numerosos macrófagos. Se observó el proceso de vasculogénesis desde la transformación de células mesenquimales a células hemangioblásticas productoras de células endoteliales, de los primitivos tubos capilares. Se observaron espacios claros entre dos o tres de estas últimas células que indican la formación de la futura luz del vaso. Cuatro tipos celulares parecen participar en la formación de vasos: mesenquimales, macrófagos, hemangiogenéticas y precursores de pericitos identificados por su ubicación. Las vellosidades troncales mostraron vasos con eritrocitos nucleados cuyas paredes están formadas por células musculares lisas.

Estos tubos luminizados se observan en la periferia de la vellosidad y contienen formas inmaduras de eritrocitos. Ocasionalmente se observaron tubos primitivos ramificados. A veces eritrocitos nucleados flotan en el estroma. Con frecuencia células reticulares del estroma adoptan una forma de "C" cerca a varios macrófagos y por debajo del trofoblasto donde se destaca la formación de vasos.

En conclusión tres mecanismos como vasculogénesis, angiogénesis y replicación celular endotelial se presumen estar activos en esta semana de gestación.

Palabras clave: Vasculogénesis. Angiogénesis. Vellosidad placentaria humana.

SUMMARY

Disturbances in the placental vascular development demonstrated by reduced fetal capillary branching and alterations in the expression of angiogenic factors have been associated with aborts, preeclampsia intra uterine growth retardation and diabetes. This negative influence on fetal development has raised urgent demand for a better knowledge of the formation of intravellous vessel by stains of hematoxiline-eosine. Especimens were taken from an therapic abort of nine weeks of gestation with exact clinic and ultrasonographic date. The findings reveal immature intermediate villi, stem villi and numerous macrophages. Vasculogenesis from transformation mesenchymal cells to haemangiogenetic cell that produce endothelial cells of primitive capillar tubes was observed. Clear spaces between two or three of these later cells indicated the lumen of the vessel. Four types of cells could be observed: mesenchyrnal, Hofbauer cells, haemangiogenetic and presumptive pericytes. Stem villi demonstrated vessels, with nucleated erythrocytes, and vessels walls appeared formed by smooth muscle fibers. Short capillar tubes were observed lumenized with nucleated erythrocytes near to trophoblast. Sometimes these were seen isolated in the stroma. In some cases stromal reticular cells take the feature of "C" cells. In conclusion, three mechanisrns as vasculogenesis, angiogenesis and replication of endothelial cells are presumptive of being active in this week (9).

Key words: Vasculogenesis. Angiogenesis-human placental villi.

*Coordinador General del CIADANA Prof. Titular en biología celular, Fac. Cs. de la Salud, Universidad de Carabobo.

**Médico Obstetra-Ginecólogo, Patóloga de la reproducción humana. Profesora contratada de Morfología Microscópica de la Escuela de Medicina, Facultad de Cs. de la Salud UCNA, investigadora asociada al CIADANA.

***Estudiante del cuarto año de la escuela de medicina, Fac. de Cs. de la Salud, UC. Beca servicio del CIADANA.

****Médico Obstetra-Ginecólogo. Hospital Manuel Noriega Trigo, IVSS, Maracaibo Edo. Zulia.

INTRODUCCIÓN

El proceso formativo de capilares por diferenciación de células mesodérmicas en células endoteliales, en el estroma vellositario, se conoce como vasculogénesis (1). La angiogénesis o ramificación del capilar ya formado según este mecanismo constituye un proceso distinto cuya biología celular y molecular no es motivo principal de este trabajo. El inicio y posterior desarrollo de estos vasos, por vaculogénesis, ha sido muy poco estudiado a diferencia de su estructura o arquitectura ampliamente descrita. Una problemática originada en este tipo de estudio ha sido la obtención de especímenes con la fecha exacta del embarazo no disponiéndose de datos seguros en la serie analizada (2). El uso de primates no humanos (3) como monos Rhesus (Macaca mulatta) ha permitido complementar algunos datos y llevarnos a confirmar que la vasculogénesis placentaria en humanos y en el macaco es muy similar (1). La serie más completa, presentada por Demir y col. (1), con especímenes bien definidos según detalles de etapa del desarrollo embrionario como número de somitas o distancia cráneo-rabadilla, adolece de la observación de algunas semanas. Esta se realizó con el esfuerzo de varias universidades en diferentes países teniendo que confiar en datos provenientes de la anamnesis o la clínica. En ella no se mostraron micrografías de la semana 9. Además se afirmó que durante el período denominado de "Etapas tardías", desde el día 32 p.c. hasta la semana 12 p.c., se pueden observar las etapas muy tempranas de la formación de capilares y con esta intención hemos desarrollado este trabajo.

Por otro lado, aproximadamente, el 10 % de los embarazos humanos sufren de complicaciones asociadas con mal desarrollo velloso inexplicado resultando en problemas neonatales y fetales desde los prematuros vía retardo de crecimiento intrauterino (RCIU) parcialmente con retardo mental, hasta muerte neonatal o intrauterina (4,5). La placenta humana es una fuente rica de sustancias angiogénicas que participan en la formación de vasos así como la adaptación vascular maternal al embarazo. Perturbaciones en el desarrollo vascular placentario demostrado por reducida ramificación capilar vellosa, mal desarrollo del árbol velloso y alteraciones en la expresión de factores angiogénicos en la unidad fetomaternal se asocian con: abortos, preeclampsia, RCIU, diabetes gestacional y diabetes maternal (6). Esta influencia negativa sobre el posterior desarrollo físico y mental del neonato provoca un impacto socioeconómico tremendo que amerita el entendimiento urgente de los mecanismos de la vasculogénesis y los factores que la provocan. Evaluar con microscopia de luz si durante la novena semana del desarrollo se observan algunas de las etapas de la vasculogénesis temprana en el estroma de la vellosidad y discutir sobre los factores que la afectan es el propósito de este trabajo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Especímenes de placenta obtenida de nueve semanas de embarazo normal interrumpido por aborto legal y cuya fecha de embarazo fue determinada por fecha de última menstruación (FUM), ultrasonografía y datos por anamnesis fueron procesados con las técnicas de hematoxilina-eosina de rutina. 25 láminas con más de 2 000 secciones transversales de vellosidades fueron analizadas. El material procede de una paciente quien sin percatarse de su gravidez recibió dosis de la vacuna contra el sarampión. Las vellosidades corresponden a vellosidades troncales e intermedias inmaduras observadas con el objetivo de 40X normal y el 62X planapocromático. La ubicación del inicio de la vasculogénesis y la formación del primitivo tubo vascular; así como la participación de otras células encontradas en la matriz extracelular del estroma de la vellosidad, fueron minuciosamente observadas. Se evaluó e1 porcentaje de vellosidades conteniendo tubos vasculares de diferentes tamaños en longitud con eritrocitos nucleados, en el área de la vellosidad cercana al trofoblasto. Micrografías de todo el proceso de la vasculogénesis y de los demás componentes celulares de la matriz extracelular fueron tomadas con los objetivos mencionados.

RESULTADOS

No se encontraron rasgos adversos alusivos a los efectos que pudiesen haber sido provocados por los componentes antigénicos de la vacuna, así por ejemplo, no se observó vacuolización a nivel del trofoblasto excepto la que corresponde a su estado normal.

En la periferia subtrofoblástica estromal se observa a veces, la presencia de dos o tres células que dejan un espacio vacío entre ellas el cual semeja

la aparición de una vacuola nítida en el espacio intercelular (Figuras 1,2); este espacio parece aumentar de tamaño y conformar la luz de un futuro tubo capilar. Con frecuencia se observan cerca del trofoblasto, cortes transversales de vasos capilares de muy pequeño calibre que corresponden al sistema conocido como red capilar paravascular: el vasa vasorum localizado en otros tejidos (Figura 1). Esta zona subtrofoblástica estromal mostró además células que parecen ser de la serie eritrocítica, inmaduras, o células troncales hematopoyéticas (Figura 1) nucleadas, cubiertas por otras células las cuales poseen núcleos redondeados al principio y posteriormente núcleos aplanados que parecen envolver en número de dos o tres a las ya mencionadas células troncales o madres de la serie eritrocítica. Estas células envolventes, con el aspecto de la letra C (Figura 2) se transformarán en las futuras células endoteliales conformando pequeños cilindros o capilares sanguíneos primitivos (Figura 3). Dentro de estos se pueden observar diversos tamaños celulares de la serie eritropoyética; formas maduras e inmaduras. En los lugares donde se habrá de conformar un capilar a veces se observa que las células transformadas del estroma se disponen en C. Ocasionalmente se notó la formación de un tubo capilar perpendicular a otro o bifurcándose en Y (Figuras 4 y 5).

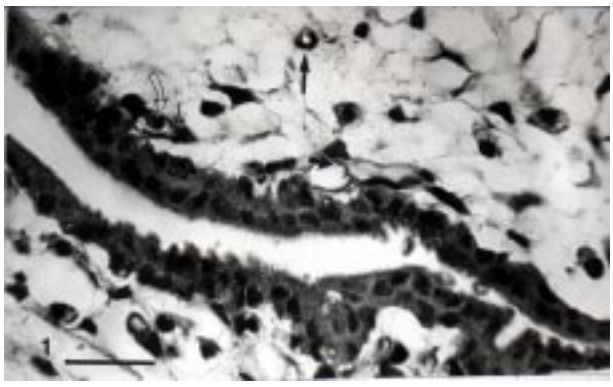

Figura 1. Dos células estromales muy pequeñas (Flecha) dejan ver un espacio entre ellas. Debajo del trofoblasto se observan cortes transversales y longitudinales de capilares (Flecha corta). La flecha curva señala una célula inmadura de la serie eritrocítica. Barra: 36 µm.

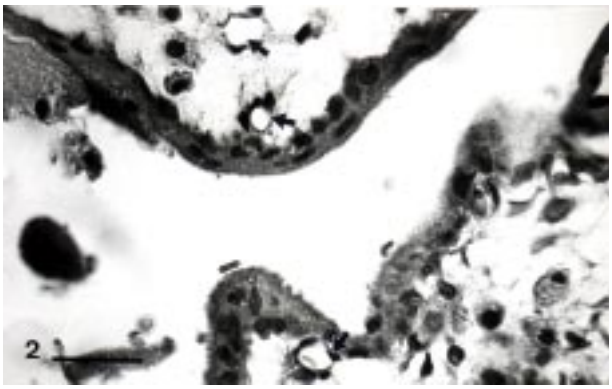

Figura 2. Células estromales mesenquimales originan un espacio para la futura luz del capilar (Flechas). Primitivos vasos recién organizados se observan en contacto con el trofoblasto. Barra: 36 µm.

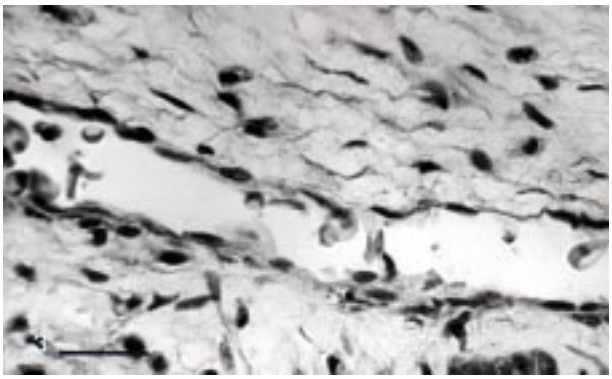

Figura 3. Un vaso bien organizado se nota con amplia luz que contiene eritrocitos en diversos grados de maduración o tamaño. Barra: 36 µm.

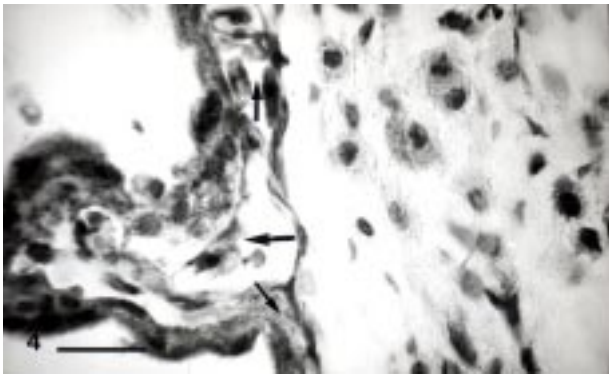

Figura 4. Región de vellosidad mesenquimal que contiene una rama capilar ascendente, otra a la izquierda y una tercera hacia abajo según indican las flechas. Barra: 36 µm.

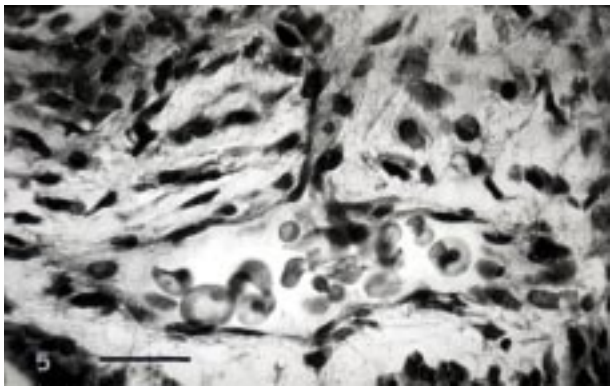

Figura 5. La rama hacia arriba del capilar indica el inicio de un proceso de angiogénesis. Barra: 36 µm.

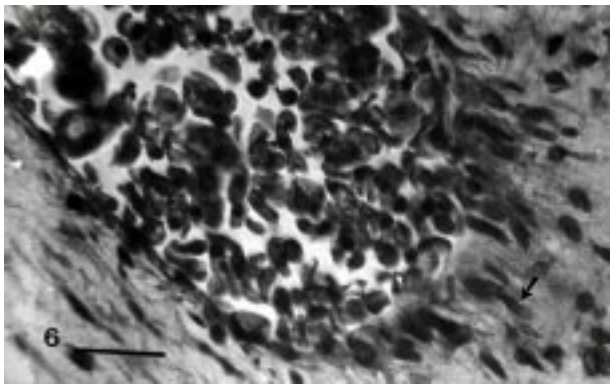

Figura 6. Región de vellosidad terciaria troncal cuyas células de la pared del vaso (Flecha) tienen el aspecto de fibra muscular lisa. Barra: 36 µm.

Lo común es encontrar cilindros cortos, repletos de eritrocitos nucleados (Figura 3) o vaciados en la periferia del estroma de la vellosidad intermedia inmadura así como vasos bien luminizados. A veces, se nota la presencia de eritrocitos nucleados inmersos o aislados en la matriz extracelular del estroma. No encontramos evidencia de que eritrocitos nucleados atraviesen las paredes de primitivos tubos capilares desde afuera del tubo capilar o algún movimiento de eritrocitos desde la luz del capilar hacia el estroma. El 80 % de las vellosidades intermedias inmaduras presentan la vasculogénesis en la periferia estromal subtrofoblástica. Las vellosidades troncales (Figura 6) presentaron arteriolas cuyas paredes están conformadas por células musculares lisas paralelas al eje longitudinal del vaso con una luz repleta de eritrocitos en diversas fases de maduración.

Numerosos macrófagos (Figura 7) o células de Hofbauer se notan en el estroma de la vellosidad intermedia. Se logran ver hasta 45 por campo con el objetivo de 40X en algunas secciones. Pueden asociarse íntimamente a células reticulares del estroma y con frecuencia se observan grupos de dos como si resultaran de una división mitótica. Ocasionalmente se observó a los macrófagos adoptar la forma de C y estar muy cerca de donde se desarrolla en el proceso de la vasculogénesis. Próximo a la pared del tubo capilar suelen observarse células del estroma que se desarrollan en relación con ella y muy probablemente se trata de presuntivos pericitos (Figuras 8 y 9) o de fibras musculares lisas si se observan en vellosidades troncales.

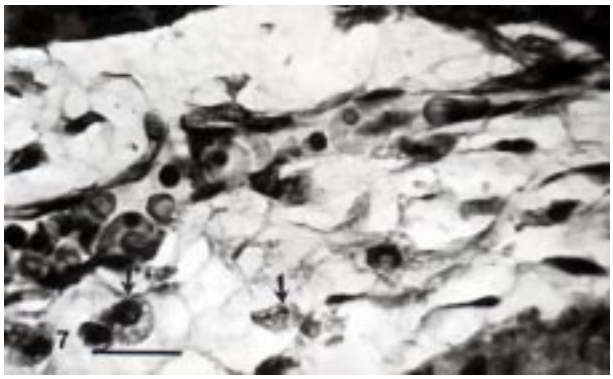

Figura 7. Trayecto longitudinal de un sector del capilar flanqueado por macrófagos (Flechas). Barra: 36 µm.

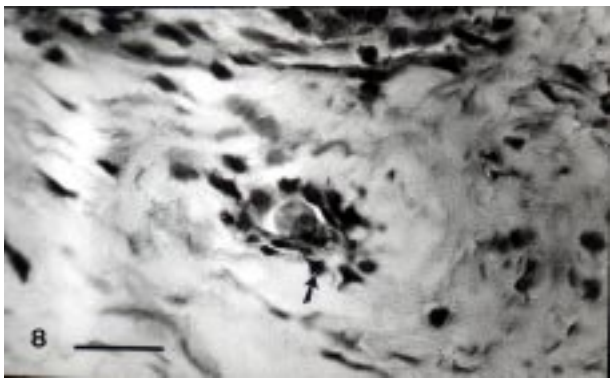

Figura 8. Células presuntamente pericitos (Flecha) se notan en área estromal cerca de la pared del capilar la cual se observa en estrecho contacto con la matriz estromal extracelular. Barra: 36 µm.

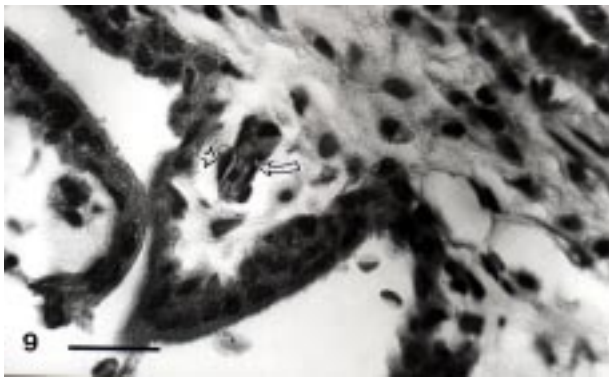

Figura 9. Región de vellosidad mesenquimal con un sector de tubo capilar (Flecha curva) asociado a un presuntivo pericito. (Cabeza de flecha). Barra: 36 µm.

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio reportan el proceso de la vasculogénesis en la vellosidad intermedia inmadura, durante la novena semana de embarazo, con todas las etapas del proceso, el cual había sido reportado anteriormente tomando en cuenta casi todo el período del embarazo y por tanto una gran cantidad de esfuerzo en la recolección de especímenes para una visión integral del mismo (1). Estos resultados son consistentes a los reportados por Dempsey (2), King (3) Demir y col. (1), Knoth (7) y Asan y col. (8) quienes emplearon técnicas de microscopia electrónica de transmisión (MET) y especímenes de diferentes semanas de gestación en serie. Los autores coinciden en que al principio de la vasculogénesis, células mesenquimales del estroma sufren una diferenciación y se transforman en células hemangioblásticas las cuales conformarán cordones celulares hemangioblásticos, constituidos por dos hileras de células colocadas por aposición una al lado de la otra. Posteriormente en las zonas de contacto celular aparecen medios de unión como desmosomas o uniones íntimas, colocadas a ciertas distancias unas de otras. Entre la distancia de dos uniones comienzan a formarse unos espacios que se agrandan cada vez más y tienden a confluir originándose la luz del vaso capilar primitivo. Células mesenquimales por fuera del tubo capilar primitivo se diferencian en pericitos o células musculares lisas. Este proceso dura aproximadamente 21 a 28 días (1) y ya hay circulación en los días 22 ó 23 (7) en la vellosidad placentaria correspondiente al embrión de siete somitas.

La hematopoyesis intravascular reportada por otros autores (1,3) fue también observada por nosotros. Antes de la sexta semana del desarrollo la hematopoyesis se origina en el mesodermo del saco vitelino, lo que significa que es extraembrionaria. Al final de la octava semana la hematopoyesis es intrahepática fetal (9). La observación de eritrocitos nucleados inmaduros en nuestros resultados en vellosidades intermedias inmaduras y en las troncales indica una ya establecida o permanente circulación sanguínea. Las formas inmaduras de eritrocitos encontrados en nuestros primitivos tubos capilares son de origen fetal.

Algunas imágenes aquí observadas corresponden a vasculogénesis en vellosidades mesenquimales que se localizan en la periferia de vellosidades intermedias inmaduras. Es posible que debido al reducido tamaño de las células observadas en las Figuras 1,2 esta vasculogénesis corresponde al origen de los vasos de pequeño calibre presentes en el sistema de la red capilar paravascular; origen que no había sido demostrado hasta la fecha en la literatura. Estos vasos se organizan en conexión con vasos de mayor calibre y son producto de una obstrucción vascular que se origina en el momento en que las vellosidades intermedias inmaduras se transforman en vellosidades troncales. En el transcurso del embarazo quedan como vasos vestigiales y afuncionales (10).

La gran cantidad de macrófagos o células de Hofbauer que fueron observadas en esta semana pueden ser producto de una reacción inmunológica ante los componentes de la vacuna del sarampión. Normalmente la vellosidad intermedia inmadura posee macrófagos en los llamados canales estromales de Kaufmann, pero la incrementada o exagerada visión de ellos llama la atención. Por otro lado, esta semana corresponde a un período de desarrollo de intensa remodelación de la matriz extracelular ya que la gradual transformación de vellosidades intermedias inmaduras en troncales requiere de la participación de macrófagos que liberan metaloproteinasas (3). Las nuevas ramificaciones de vellosidades, que nacen de la vellosidad intermedia inmadura, requieren de que células de Hofbauer estén muy cerca de donde se está realizando el

proceso de vasculogénesis.

Los macrófagos, en parte, parecen regular la angiogénesis en esta semana del embarazo; en efecto ellos expresan un potente factor de crecimiento angiogenético; el factor de crecimiento endotelio vascular (VEGF, según siglas en inglés) y su receptor flt (11). Macrófagos, precursores de células endoteliales o células hemangioblásticas, factores de crecimiento y sus receptores en la vellosidad mesenquimal interactúan en la formación de nuevos vasos como rasgo fundamental del desarrollo de la placenta.

Mediante técnicas de cultivo de líneas celulares endoteliales vasculares (12) se comprobó la liberación del factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF, según siglas en inglés) secretado por el trofoblasto sin el cual la angiogénesis se imposibilitaría en las puntas de las vellosidades mesenquimales (4) actividad que quedó eliminada cuando se agregó al medio de cultivo el anticuerpo correspondiente. Fibroblastos de placentas (13) en cultivos de baja presión de oxígeno (hipoxia) son capaces de secretar el VEGF en sus variedades VEGF 121; VEGF 189; VEGF 206; que inducen la angiogénesis y mediante este mecanismo estimulan el crecimiento placentario que ha sido confirmado mediante el uso de reacción en cadena de la polimerasa transcriptasa reversa (RT-PCRT, según siglas del inglés), técnica de amplio uso en la biología molecular.

Nuestros resultados sobre el elevado porcentaje de vellosidades con vasculogénesis localizada en contacto con el trofoblasto o en el área muy cercana a este, coincide con lo reportado por Asan y col. (8) quienes analizaron la vasculogénesis en las semanas 12 a 14 de gestación. Ellos sugieren, a nivel ultraestructural, que los citotrofoblastos probablemente atraen células mesenquimales mediante la secreción de VEGF y una vez que estas contactan la membrana basal se inicia su diferenciación en células endoteliales. A medida que los vasos se originen más cerca del trofoblasto estarán mejor disponibles para el intercambio materno fetal (14) según se deduce de un estudio realizado durante el primer trimestre de embarazo, entre las 5 y las 12 semanas donde el porcentaje de área estromal vellosa ocupada por elementos vasculares aumentó desde un 0,7 % en la semana 5 hasta 2,5 % en la semana 10. Además el incremento del número de vasos periféricos bien luminizados ha permitido ilustrar en este período una maduración desde los cordones hemangioblásticos no luminizados y su marginación en el área cercana al trofoblasto (14,15).

Moléculas de bajo peso molecular con actividad angiogénica en la matriz extracelular, no bien conocidas, estimulan la formación del tubo endotelial y participan en la proliferación y diferenciación de la célula endotelial (16). Como se comprenderá la formación del tubo capilar ocurre cuando el VEGF se asocia a su receptor VEGF-R1 (fltl), cuya variante soluble parece proteger a la placenta de los efectos del exceso de VEGF (17). Esta señal es la que provoca la formación de capilares o una angiogénesis ramificada que se observa en la vellosidad mesenquimal o intermedia inmadura (4). Otro factor fuertemente expresado en la placenta es el factor de crecimiento placentario (PL GF) que juega un papel en la angiogénesis placentaria, inhibiendo la ramificación. Este cambio o conexión de una angiogénesis de la semana 18, por ejemplo, a una angiogénesis menos ramificada correspondiente al último trimestre del embarazo se acompaña durante el embarazo de un decrecimiento del VEGF pero con aumento del PLGF (4). En la semana aquí analizada apenas se observaron indicios de ramificación. El crecimiento longitudinal del capilar parece estar promovido por el factor de crecimiento derivado de las plaquetas tipo B (PDGF-B) y su receptor. Además cuando durante el primer trimestre del embarazo el brote de naturaleza trofoblástica es invadido por el mesénquima, este brote se transforma en brote velloso que al ser vascularizado origina la vellosidad mesenquimal como las aquí mostradas. En la superficie apical trofoblástica de estos brotes vellosos o mesenquimales se expresan receptores de insulina que parecen estar envueltos en la angiogénesis placentaria (4). Durante el segundo y tercer trimestre la insulina fetal regula el crecimiento longitudinal y la ramificación del capilar.

Estimuladores del complejo proceso de proliferación y formación de nuevos vasos sanguíneos capilares como la angiogenina humana, l4-k Da polipéptido no glucosilado, se produce en concentraciones superiores durante el término del embarazo comparado con el primer trimestre; indicando una sobrerregulación de su producción en el momento en que la placenta madura (18).

Es posible que de esta manera el trofoblasto regula la formación de vasos en la vellosidad mesenquimal y en la intermedia inmadura pasando desde una angiogénesis ramificante donde la placenta se expande para producir de 10 a 16 generaciones de

vellosidades, troncales, antes de la viabilidad fetal, hasta que el feto sea viable y la placenta produzca una angiogénesis no ramificante en las vellosidades intermedias ya maduras y fisiológicamente orientada al intercambio gaseoso en las vellosidades terminales (19). Proto-oncógenes como el c-etsl se expresan también en los vasos aquí observados (20) relacionados con las proteasas que degradan la matriz; expresión esencial para asegurar la formación de nuevos vasos sanguíneos.

La presencia de tubos capilares primitivos y de la esporádica visión de tubos que se ramifican es indicativa de que en la semana nueve se dan ambos procesos tanto de vasculogénesis como de angiogénesis y también del crecimiento longitudinal. Esta es una de las semanas donde la tensión del oxígeno es mayor comparada con la existente en el día 21 donde la vellosidad todavía es secundaria. La constante elevación de oxígeno provoca una angiogénesis ramificante hasta la semana 24 de gestación en la cual se produce un cambio favoreciendo la angiogénesis no ramificante como se explicó anteriormente (21).

Durante el embarazo temprano la anemia materna parece influenciar el patrón de vascularización placentaria (22). En efecto un incremento del número de capilares, por sección transversal de la vellosidad, ubicados en el tercio externo del estroma, por debajo del trofoblasto, con elevado número de macrófagos estromales, se encontró en mujeres embarazadas anémicas (22), lo que coincide con lo aquí reportado en esta semana nueve. Esta reacción vascular, o angio-génesis ramificante continua, asociada con la anemia, se interpreta como un mecanismo de compensación ante la hipoxia al igual que los embarazos que ocurren a elevada altitud (21). Técnicas de biología molecular como la reacción en cadena de polimerasas transcriptasas reversa ha evidenciado la participación de VEGF en un medio o ambiente hipóxico (13). Esta condición observada en la embarazada anémica pudiera alterar la impedancia vascular placentaria durante la etapa temprana de la vida fetal ejerciendo un importante efecto sobre el posterior desarrollo cardiovascular (22); por esto no es raro encontrar estudios epidemiológicos que describen una asociación entre el tamaño relativo de la placenta obtenida en el parto y la morbi-mortalidad durante la vida adulta. Otro fenotipo de desarrollo vascular aparece en embarazos con RCIU severo en el primer trimestre, que exhiben flujo sanguíneo feto-placentario reducido con vellosidades alargadas, rectas sin ramificaciones, o muy pocas, rara vez presentes, pero que se producen en un ambiente distinto al anterior, o sea en hiperoxia, donde el PLGF está incrementado y los valores del VEGF reducidos (21) ignorándose hasta la fecha el mecanismo inicial de su aparición.

En conclusión, todos los elementos morfológicos de formación del vaso capilar parecen estar representados en su aparición en esta semana del desarrollo y la explicación de su desarrollo por la biología molecular apenas comienza a entenderse. Factores reguladores positivos descritos en la literatura parecen incrementar los cambios morfológicos observados que representan una visión general de la vasculogénesis, angiogénesis y el crecimiento longitudinal de los endotelios durante la novena semana de gestación.

REFERENCIAS

1. Demir R, Kaufmann P, Castellucci M, Erbengi T, Kotowski A. Fetal vasculogenesis and angiogenesis in human placental villi. Acta Anat 1989;136:190-203.
2. Dempsey EW. The development of capillaries in the villi of early human placentas. Am J Anat 1972;l34:221-238.
3. King BF. Ultrastructural differentiation of stromal and vascular components in early macaque placental villi. Am J Anat 1987;178:30-44.
4. Castellucci M, Kosanke G, Verdenelli F, Huppertz B, Kaufmann P. Villous sproutin: Fundamental mechanisms of human placental development. Hum Reprod Update 2000;6:485-494.
5. Todros T, Sciarrone A, Piccolli E, Guiot C, Kaufrnann P, Kingdom J. Umbilical Doppler waveforms and placental growth restriction. Obstet Gynecol 1999;93:499-503.
6. Zygmunt M. Placental circulation: Clinical significance. Early pregnancy 2001;5:72-73.
7. Knoth M. Ultrastructure of chorionic villi from a four-somite human embryo. J Ultrastruct Res 1968;25:423-440.
8. Asan E, Kaymaz FF, Cakar AN, Dagdeviren A, Beksac MS. Vasculogenesis in early human placental villi: An ultrastructural study. Ann Anat 1999;181:549-554.
9. Lewis SH, Perrin E. Pathology of the placenta. New York: Churchill Livingstone; l999.p.72,73.
10. Benirschke K, Kaufmann P. Pathology of the human placenta. 3ª edición. New York: Springer-Verlag: 1995.p.132-150.

11. Wetzka B, Clark DE, Chamock-Jones DS, Zahradnik HP, Smith SK. Isolation of macrophages (Hofbauer cells) from human term placenta and their prostaglandin E2 and thromboxane production. Hum Reprod 1997;12:847-852.

12. Hamai Y, Fugii T, Yamashita T, Kozuma S, Okai T, Taketani Y. Evidence for basic fibroblast growth factor as a crucial angiogenic growth factor, released from human trophoblasts during early gestation. Placenta 1998;19:149-155.

13. Wheeler T, Elcock CL, Anthony FW. Angiogenesis and the placental environment. Placenta 1995;16:289-296.

14. Velde EA, Exalto N, Hesseling P, van der Linden HC. First trimester development of human chorionic villous vascularization studied with C D 34 immuno-histochemistry. Hum Reprod 1997;12:1577-1581.

15. Chalher JC, Carbillon L, Kacemi A, Vervelle C, Bintein T, Galtier M, et al. Characterization of first trimester human fetal placental vessels using immuno-cytochemical markers. Mol Biol 2001;47:79-87.

16. Akhta N, Carlso S, Pesarini A, Ambulos N, Passaniti A. Extracellular matriz derived angiogenic factor(s) inhibit endothelial cell proliferation, enhance differentiation, and stimulate angiogenesis in vivo. Endotbelium 2001;8:221-234.

17. Smith SK, He Y, Clark DE, Charnock-Jones DS. Angiogenic growth factor expression in placenta. Semin Perinatol 2000;24:82-86.

18. Rajashekhar G, Loganath A, Roy AC, Wong YC. Expression and localization of angiogenin in placenta: Enhanced levels at term over first trimester villi. Mol Reprod Dev 2002;62:159-166.

19. Kingdom J, Huppertz B, Seaward G, Kaufinann P. Development of placental villous tree and its consequences for fetal growth. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2000;92:35-43.

20. Luton D, Sibony O, Oury JF, Blot P, Dieterlen-Lievre F, Pardanaud L. The c-ets1 protooncogene is expressed in human trophoblast during the first trimester of pregnancy. Early Hum Dev 1997;47:147-156.

21. Kingdom JC, Kaufmann P. Oxigen and placental vascular development. Adv Exp Med Biol 1999;474:259-275.

22. Kadyrov M, Kosanke O, Kingdom J, Kaufmann P. Increased fetoplacental angiogenesis during first trimester in anaemic women. Lancet 1998;352:1747-1749.

Agradecimientos

A la coordinación administrativa de la Fac. Cs de la Salud Núcleo Aragua, por el fondo fijo institucional para el CIADANA, al Depto de Anatomopatología del Hospital Noriega Trigo, del IVSS, Maracaibo, Edo. Zulia, por material enviado.

Correspondencia: Prof. Olivar C Castejón, Coordinador General del CIADANA Prof. Titular en Biología celular. Laboratorio de Microscopia electrónica, Fac. Cs de la Salud. Universidad de Carabobo. Maracay. Apdo 4944.