



Lesiones de la vellosidad placentaria en pacientes con infección por VIH-1 tratadas con zidovudina

Olivar C Castejón S *, Ángela J López G, ** Luis M Pérez Ybarra, *** Oliver C Castejón M****

Nivel de evidencia: II-2

RESUMEN

Antecedentes: el VIH-1 llega a la placenta mediante la transmisión materno-fetal desde un útero infectado. Este virus posee capacidades citolíticas. La placenta, en su proceso normal de maduración, presenta cambios regresivos o degenerativos que se consideran normales. Sin embargo, factores tales como virus y antirretrovirales, pueden incrementar la proporción de lesiones.

Objetivo: evaluar las alteraciones morfológicas en vellosidades placentarias de pacientes con infección por VIH-1 tratadas con zidovudina.

Material y método: estudio descriptivo, prospectivo, comparativo, con muestreo no probabilístico de observaciones en vellosidades como unidades de análisis de las placetas del grupo de pacientes con infección por VIH-1 tratadas con zidovudina y del grupo control de cuatro placetas de pacientes VIH negativas, ambos grupos en el último trimestre del embarazo. Se utilizó tinción de hematoxilina-eosina en 25 láminas de cinco regiones placentarias del grupo de estudio y las cuatro de control, utilizando un protocolo de 6 variables identificando nódulos sinciciales, cambios fibrinoides, edema veloso, fibrosis estromal, calcificación e inmadurez vellosa. Las observaciones se analizaron utilizando el ANAVAR según un arreglo de tratamiento factorial 2×5 con submuestreo y 4 repeticiones bajo un diseño de parcelas divididas y el test de Tukey.

Resultados: las vellosidades coriales presentaron porcentajes de alteraciones que sobrepasan a los valores normales. Se demostró que existen diferencias significativas ($p<0.05$) entre las placetas expuestas al VIH-1 y al AZT y las placetas normales, en relación al porcentaje de vellosidades afectadas por 5 variables exceptuando la fibrosis.

Conclusiones: las lesiones encontradas pudieran estar incrementando la transmisión vertical del VIH-1. También se encontró evidencia de que la barrera placentaria no está en las mejores condiciones para la transferencia de gases, nutrientes y metabolitos, lo que podría favorecer una disminución en el peso del recién nacido y peso placentario.

Palabras clave: alteraciones morfológicas, vellosidades placentarias, virus de inmunodeficiencia humana.

ABSTRACT

Background: HIV-1 reaches the placenta through the maternal-fetal transmission from an infected uterus. This virus has cytolytic capabilities. The placenta in its maturation process has regressive or degenerative changes within certain limits, are considered normal. However, factors such as virus and antiretrovirals, can increase the proportion of these lesions.

Objective: To evaluate morphological changes in placental villi of pregnant women infected with HIV-1 treated with AZT.

Material and Methods: descriptive, prospective, comparative, with non-probability sampling of observations in villi as units of analysis of the placenta from the group of patients with HIV-1 infection and zidovudine regimen and of the control group of four placentas from HIV negative patients. Both groups in the last trimester of pregnancy. H-E staining was used in 25 films from five placental regions of the study group and four from the control group, using a protocol of 6 variables identifying syncytial knots, fibrinoid changes, villous edema, stromal fibrosis, calcification and villous immaturity. Observations were analyzed using ANOVA as a 2×5 factorial arrangement with 4 replications subsampling and split plot design and Tukey test.

Results: Chorionic villi showed percentages of alterations that exceed the normal range. It showed significant differences ($p<0.05$) between the placenta exposed to HIV-1 and AZT and normal placenta in relation to the percentage of villi affected by 5 variables, except fibrosis.

Conclusions: The lesions may be increasing the vertical transmission of HIV-1. We also found evidence that the placenta is not in the best conditions for the transfer of gases, nutrients and metabolites, which could promote a decrease in birth weight and placental weight.

Key words: morphological alterations, placental villi, human immunodeficiency virus.

RÉSUMÉ

Antécédent: le VIH-1 atteint le placenta par la transmission materno-foetale à partir d'une infection de l'utérus. Ce virus possède des capacités cytolytique. Le placenta, dans le processus de maturation normale, a introduit des changements régressifs ou dégénérative qui sont considérés comme normaux. Cependant, des facteurs tels que le virus et les antirétroviraux, peut augmenter la proportion d'accidents.

Objectif: évaluer les changements morphologiques des villosités placentaires des patients atteints de VIH-1 traités à la zidovudine.

Matériel et Méthodes: A descriptive, prospective, échantillon non probabiliste avec les observations de villosités comme unités d'analyse des placentas du groupe de patients atteints du VIH-1 chez les groupes traités par la zidovudine et le contrôle de quatre placentas des patients séronégatifs pour le VIH. Les deux groupes durant le dernier trimestre de la grossesse. Nous avons utilisé l'hématoxyline-éosine dans 25 films provenant de cinq régions du placenta du groupe d'étude et quatre dans le contrôle, en utilisant un protocole de 6 variables d'identification noeuds syncytial, les changements fibrinoïde, œdème des villosités, la fibrose du stroma, la calcification et l'immaturité villeux. Les observations ont été analysées en utilisant ANOVA comme un dispositif factoriel 2 répétitions 5 avec sous-échantillonnage et 4 x le cadre d'un dispositif en parcelles divisées et le test de Tukey.

Résultats: villosités choriales ont montré des altérations pourcentages qui dépassent les limites de la normale. Elle a montré des différences significatives ($p < 0,05$) entre les placentas exposés au VIH-1 et de l'AZT et le placenta normal par rapport au pourcentage de villosités affectés par 5 variables, sauf la fibrose.

Conclusion: Les lésions constatées pourraient être l'augmentation de la transmission verticale du VIH-1. Nous avons également constaté que le placenta n'est pas dans les meilleures conditions pour le transfert de gaz, de nutriments et des métabolites, ce qui pourrait favoriser une diminution de poids à la naissance et le poids du placenta.

Mots-clés: altérations morphologiques, les villosités placentaires, le virus de l'immunodéficience humaine.

RESUMO

Antecedentes: HIV-1 chega à placenta, através da transmissão materno-fetal do útero infectadas. Este vírus tem capacidade citolítica. A placenta, no processo de maturação normal, introduziu alterações regressiva ou degenerativa que são considerados normais. No entanto, fatores como vírus e anti-retrovirais, pode aumentar a quota de lesões.

Objetivo: Avaliar alterações morfológicas em vilosidades placentárias de pacientes com infecção pelo HIV-1 tratados com zidovudina.

Material e Métodos: Estudo descritivo, prospectivo, amostra não-probabilística com observações em vilosidades como unidades de análise das placentas do grupo de pacientes com infecção pelo HIV-1 tratados com zidovudina e controle de grupos de quatro placentas de pacientes HIV negativos. Ambos os grupos no último trimestre da gravidez. Usamos hematoxilina-eosina de 25 filmes provenientes de cinco regiões da placenta do grupo de estudo e quatro no controle, usando um protocolo de 6 variáveis identificar nós sinciciais, mudanças fibrinóide, edema dos vilos, fibrose estromal, calcificação e imaturidade vilositária. As observações foram analisados pela ANOVA em esquema fatorial 2 x 5 repetições com subamostragem e 4 no âmbito de um esquema de parcelas subdivididas e teste de Tukey.

Resultados: vilosidades coriônica Eichmann Percentuais de alterações que exceder a faixa normal. Eichmann É diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as placentas expostas ao HIV-1 e AZT e placentas normais em relação ao percentual de vilosidades Atingidos por cinco variáveis, exceto fibrose.

Conclusões: As lesões podem estar aumentando a transmissão vertical do HIV-1. Evidências de que também encontramos a placenta não está em melhores condições para a transferência de gases, nutrientes e metabólitos, que poderia promover uma diminuição no peso ao nascer e peso placentário.

Palavras-chave: alterações morfológicas, as vilosidades placentárias, vírus da imunodeficiência humana.

* Magíster scientiarum en Ciencias Morfológicas. Profesor agregado de Morfología del Departamento de Ciencias Morfofisiológicas de la Escuela de Bioanálisis, Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo, Núcleo Aragua, Venezuela.

** Magíster scientiarum en Matemáticas. Profesor agregado de Matemática, Departamento de Ciencias Básicas, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Núcleo Aragua, Venezuela

*** Médico cirujano, Hospital I de Santa Teresa del Tuy, Estado Miranda, Venezuela.

Recibido: marzo 2, 2011. Aceptado: marzo 3, 2011.

Correspondencia: Prof. Olivar C Castejón. Laboratorio de Microscopía Electrónica. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo, Núcleo Aragua. Centro de Investigación y Análisis Docente Asistencial del Núcleo Aragua (CIADANA). Maracay, Estado Aragua. Venezuela. Apdo. 4944. Correo electrónico: olivar.ciadanauc(a)qmail.com.

Este artículo debe citarse como: Castejón SOC, López GAJ, Pérez-Ybarra LM, Castejón MOC. Lesiones de la vilosidad placentaria en pacientes con infección por VIH-1 tratadas con zidovudina. Ginecol Obstet Mex 2011; 79(5):269-279.

El VIH-1 es un retrovirus no oncogénico con marcado poder citolítico que infecta y destruye la población de linfocitos T CD4 y llega a la placenta mediante la transmisión materno-fetal desde un útero infectado, durante el embarazo o en el parto. En la transmisión vertical del mismo son muchos los mecanismos complejos involucrados y el tejido placentario parece resistir el ataque viral. El uso de antirretrovirales, como la zidovudina (AZT), ha reducido esta transmisión. La literatura consultada no describe lesiones de las vilosidades placentarias en embarazadas complicadas de VIH-1.¹ Se propone describir y cuantificar, con técnicas de microscopía de luz y estadística aplicada, en embarazadas de bajos recursos económicos, las lesiones, como nódulos sinciciales, cambios fibrinoides, edema, fibrosis, calcificación y la inmadurez vilosa que pudieran afectar el desarrollo fetal subyacente y observar los cambios morfológicos bajo el efecto de

las dos variables que afectan el desarrollo de la vellosidad: el VIH -1 y el agente antirretroviral. El objetivo de este trabajo es evaluar los cambios mencionados en la vellosidad bajo estos dos factores y describirlos en el grupo de estudio y control.

Durante la transmisión materno-fetal el VIH-1 puede ser adquirido en el embarazo, el parto o lactancia y la vellosidad placentaria juega un papel importante con la participación del trofoblasto en la entrada del virus. La llegada de estos retrovirus con marcado poder citolítico crea un espectro de lesiones patológicas aún no bien documentado o conocido. Al comparar casos con zidovudina y sin ella no hay lesiones generales significativas y el disco placentario no muestra un decrecimiento significativo en sus dimensiones.¹ Otros investigadores no han encontrado diferencias histopatológicas significativas entre placetas trasmisoras y no trasmisoras del VIH-1.² En numerosas placetas examinadas no se notaron cambios degenerativos provocados por el VIH-1.³ Al analizar las placetas, en la placa coriónica se encontró inflamación del amnios,^{4,5} aunque un estudio más reciente revela que no hay diferencia significativa entre placetas de embarazadas VIH positivas sin tratamiento antirretroviral y VIH negativas con respecto a la corioamnionitis.⁶ La placenta pareciera no afectarse en presencia del VIH-1. No obstante, las vellosidades pueden inflamarse por otros agentes diferentes al VIH con más frecuencia en placetas de embarazadas con bajo nivel socioeconómico que las de clase media;⁷ esto indica que los factores socioeconómicos pudieran influir en la infección placentaria. Suponemos que las placetas de embarazadas de bajos recursos económicos complicadas con VIH-1 pudieran demostrar cambios histopatológicos en sus vellosidades. El objetivo de este estudio es evaluar la presencia de los seis cambios mencionados para explicar la variación estructural y señalar su consecuencia en el desarrollo fetal.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio descriptivo, prospectivo, comparativo, con muestreo no probabilístico de observaciones en vellosidades como unidades de análisis, de las cuatro placetas de embarazadas de ambos grupos. Se seleccionaron dos grupos de placetas. El grupo de estudio de cuatro placetas de embarazadas de bajos niveles socioeconómicos con edad gestacional entre 38 y 40 semanas, con esquema de

tratamiento antirretroviral según el protocolo del grupo de ensayos clínicos del SIDA pediátrico,⁸ PACTG 076, de acuerdo con las siglas en inglés, siguiendo el tratamiento y uso de 3'-azido-3'-desoxitimidina (AZT) según Connor et al⁹ iniciado durante el tercer trimestre del embarazo en dos embarazadas, uno antes del embarazo y otro durante el segundo trimestre. Los límites del peso de las placetas fueron 500 y 546 g. Los pesos de recién nacidos por cesárea entre 3050 y 3300 g. Serología de embarazadas negativa para hepatitis B, C, citomegalovirus, EBV, rubéola y toxoplasmosis. Sin ninguna otra enfermedad metabólica, genética o parasitaria, con nacidos vivos, sin evidencia de malformación y seronegativos a las seis semanas de nacimiento.

El grupo control fue de cuatro placetas de embarazadas VIH negativas de similar condición económica, edad y peso que parieron por parto vaginal y dieron pesos de recién nacidos apropiados en el rango de la misma edad gestacional. Los pesos placentarios estuvieron entre 560 y 600 g. Los pesos de recién nacidos entre 3200 y 3400 g.

A las embarazadas infectadas con VIH-1 se les dio a conocer el consentimiento informado y aprobación del comité de ética de la institución hospitalaria para la realización de la investigación según la declaración de Helsinki. Fueron diagnosticadas por ensayo de Micro - Elisa de cuarta generación, con equipo automatizado AXSYM (Abbot, EUA) y test confirmatorio Western Blot Assay HIV Blot 2.2 de MP Diagnostics (Germany-Singapore Science Park). En el laboratorio de biología molecular se reconfirmó la presencia viral en el material de vellosidad fresco, mediante la técnica de PCR.

Las cargas virales de las embarazadas estuvieron por debajo de 1000 copias/mL de plasma de acuerdo con la técnica de reacción en cadena de la polimerasa de la transcriptasa inversa conocida por PCR o RT-PCR. Como cada virus lleva dos copias de ARN, si se encontraban 2000 copias de ARN del VIH, según esta técnica, el número de copias por mL fue de 1000.

Las placetas se examinaron con láminas histológicas. A los dos grupos de vellosidades seleccionados, mediante un protocolo de observación, se les determinaron seis variables, como: 1) nódulos sinciales 2) cambios fibrinoides 3) edema 4) fibrosis estromal 5) calcificación y 6) madurez vellosa. Se examinaron cinco biopsias por cada placenta, de la región marginal y central, abarcando ambas

placas coriónica y basal. De cada biopsia se obtuvieron 5 láminas de tejidos para ser procesadas con la tinción de hematoxilina y eosina, 25 por placenta, para un total de 100 láminas con el grupo de vellosidades con VIH y 100 sin VIH. Para evaluar la existencia de las lesiones microscópicas, según el protocolo, se tomaron 20 campos por lámina con el objetivo de 40x para cada una de las 6 variables o caracteres del mismo. Estas observaciones se realizaron sin tomar en cuenta el inicio distinto en el esquema del tratamiento. Las vellosidades fueron vistas con un fotomicroscopio MC63A Zeiss, Standard Clínico (Cari Zeiss, Oberkochen, West Germany) cuyas lesiones registradas siguieron los criterios morfológicos de la literatura.^{10,11} En un análisis cuantitativo se seleccionaron 100 vellosidades por cada lesión (aproximadamente 15,000 vellosidades por placenta); con el objetivo de 10x se visualizaron la fibrosis y la calcificación; con el de 40x las cuatro lesiones restantes. Los datos cuantitativos o porcentajes obtenidos fueron registrados en el protocolo para su análisis.

Dos investigadores, al mismo tiempo, en mutuo acuerdo, analizaron las láminas histológicas con igual conocimiento del historial clínico, habilidad para el diagnóstico, protocolo de observación similar, número de láminas y similar criterio bibliográfico para disminuir las discrepancias intra o interobservador.

Para comparar las alteraciones morfológicas entre las placentas de pacientes normales (controles) y las de pacientes VIH-1 positivas, los datos cuantitativos o porcentajes obtenidos se analizaron mediante análisis de varianza (ANAVAR), según un arreglo de tratamiento factorial de 2 x 5 con submuestreo y 4 repeticiones bajo un arreglo de parcelas divididas. La parcela principal estuvo constituida por la condición del tejido placentario humano con 2 niveles: a saber: sano e infectado con VIH-1; y la parcela secundaria estuvo representada por las 5 regiones consideradas a la hora de extraer las muestras (Mi, M2, M3, M4 y Mc); las cuatro repeticiones fueron de las embarazadas que donaron las placentas. Cada repetición tiene, a su vez, 5 submuestras representadas por las 5 láminas que se tomaron por cada región. Posteriormente, para verificar si existían diferencias significativas se utilizó la prueba honestamente significativa de Tukey.

Para el análisis se utilizó el software StatistixR 8.0 para Windows y SASR, versión 9.0 para Windows.¹²

RESULTADOS

Nódulos sinciciales

En el Cuadro 1 se presenta el porcentaje de vellosidades con nódulos sinciciales en la placenta de pacientes infectadas con el VIH-1 y placentas de embarazadas normales. Con respecto a esta variable, el ANAVAR demostró que existen diferencias significativas ($p<0.0001$) entre las placentas de pacientes infectadas con el VIH-1 y placentas normales, así como entre las regiones consideradas en el estudio ($p=0.0289$).

Cuadro 1. Porcentaje de vellosidades con nódulos sinciciales en las placentas de pacientes infectadas con el VIH-1 y de pacientes normales

Placentas	Porcentaje de vellosidades con nódulos sinciciales	Prueba de Tukey
VIH-1	23.93%	A
Normales	13.42%	B
Regiones		
Mi	18.00%	AB
M2	19.90%	AB
M3	16.37%	B
M4	18.07%	AB
Pe	21.02%	A

Fuente: Datos de la Investigación 2011

Los grupos de medias formados a partir de la prueba de Tukey indicaron que las placentas de pacientes infectadas con el VIH-1 presentan mayor porcentaje de vellosidades con nódulos sinciciales (23.93%) en relación con las placentas de pacientes normales (13.42%). En las regiones analizadas, la prueba de Tukey formó tres grupos de medias: el grupo A formado por las regiones centrales, el grupo AB formado por las regiones Mi, M2 y M4 y el grupo B formado por la regiones M3. Al observar este resultado se podría deducir que el porcentaje de vellosidades placentarias con nódulos sinciciales varía de acuerdo con la región evidenciándose un incremento en las regiones centrales (21.02%). Sin embargo, las diferencias entre los porcentajes reportados son pequeñas.

En la Figura 1 se muestran las vellosidades placentarias con nódulos sinciciales de pacientes infectadas con el VIH-1.

Cambios fibrinoides

En cuanto a la proporción de vellosidades con cambios fibrinoides, el ANAVAR encontró que existen diferencias

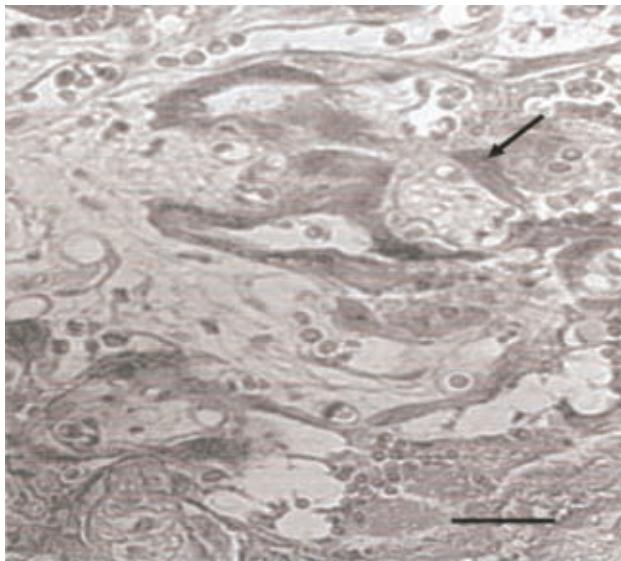


Figura 1. Vellosidades placentarias con nódulos sinciciales (flecha) en las placas infectadas con VIH-1. H-E. 40x. Barra: 49 µm (igual para las figuras subsiguientes)

significativas entre las placas de pacientes infectadas con el VIH-1 y las placas normales ($p=0.0026$). No obstante, entre las cinco regiones consideradas tanto en las placas patológicas como en las placas normales no existieron diferencias significativas ($p=0.5286$). Esto permite concluir que existe homogeneidad intraplacentaria pero no entre las placas (patológicas y normales) consideradas en este estudio. Los porcentajes de vellosidades placentarias con cambios fibrinoides en las placas de pacientes infectadas con el VIH-1 y de embarazadas normales se muestran en el Cuadro 2.

Los grupos de medias formados a partir de la prueba de Tukey indicaron que las placas de pacientes infectadas con el VIH-1 tuvieron un mayor porcentaje de vellosidades con cambios fibrinoides (12.88%) que las placas normales (10.50%). En la Figura 2 se muestran los depósitos

Cuadro 2. Porcentaje de vellosidades con cambios fibrinoides en las placas de pacientes infectadas con el VIH-1 y de pacientes normales.

Placetas	Porcentaje de vellosidades con cambios fibrinoides	Prueba de Tukey
VIH-1	12.88	A
Normales	10.50	B

Fuente: Datos de la investigación 2011

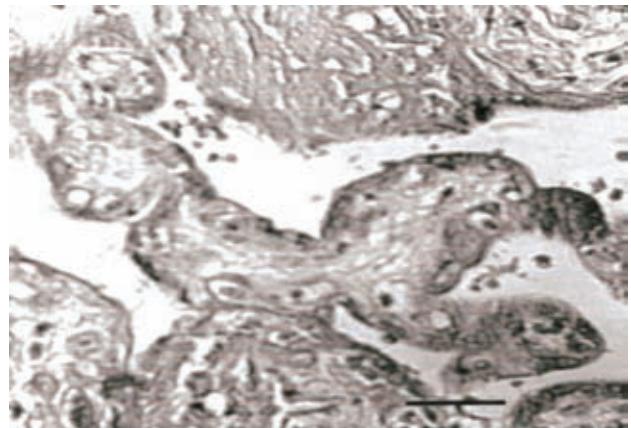


Figura 2. Vellosidades placentarias con cambios fibrinoides en las placas de pacientes infectadas con VIH-1. H&E. 40x.

de sustancia fibrinoides en las vellosidades placentarias de pacientes infectadas con el VIH-1.

Edema veloso

En la Figura 3 se muestran vellosidades placentarias de pacientes infectadas con el VIH-1 con signos de edema

En relación con esta variable en estudio, el ANAVAR demostró que no existen diferencias significativas entre las regiones ($p>0.05$) pero sí entre las placas de pacientes infectadas con el VIH-1 y placas normales ($p=0.0003$), lo cual sugiere que existe homogeneidad dentro de cada

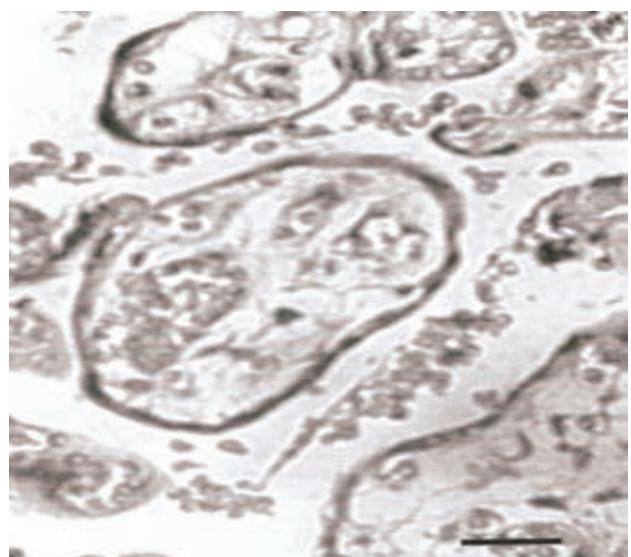


Figura 3. Vellosidades placentarias de pacientes infectadas con VIH-1 con signos de edema. HE. 40x.

placenta sea esta patológica o normal, pero heterogeneidad intraplacentaria. En el Cuadro 3 se muestran los porcentajes de vellosidades placentarias con signos de edema de pacientes infectadas con el VIH-1 y de placetas normales.

Cuadro 3. Porcentaje de vellosidades con signos de edema en placetas de pacientes infectadas con el VIH-1 y placetas de pacientes normales

Placentas	Porcentaje de vellosidades con cambios fibrinoides	Prueba de Tukey
VIH-1	8.13	A
Normales	1.58	B

Fuente: Datos de la investigación 2011

La prueba de comparaciones múltiples de Tukey mostró que las placetas de pacientes infectadas con el VIH-1 presentan mayor porcentaje de vellosidades edematizadas (8.13%) que las placetas normales (1.58%).

Fibrosis estromal

En referencia a la fibrosis estromal, el ANAVAR mostró que no existen diferencias significativas entre las placetas de pacientes infectadas con el VIH-1 y las normales ($p=0.1033$). Tampoco existen diferencias significativas entre las regiones consideradas ($p=0.6991$). Estos resultados sugieren que con respecto a esta variable en estudio existe homogeneidad intraplacentaria e interplacentaria. Los porcentajes de vellosidades con fibrosis estromal en placetas de pacientes infectadas con el VIH-1 y en las normales se muestran en el Cuadro 4.

En la Figura 4 se muestra una vellosidad terminal con fibrosis estromal en la placenta de una paciente infectada con el VIH-1.

Cuadro 4. Porcentaje de vellosidades con fibrosis estromal en placetas de pacientes infectadas con el VIH-1 y placetas de pacientes normales

Placentas	Porcentaje de vellosidades con cambios fibrinoides	Prueba de Tukey
VIH-1	3.55%	A
Normales	2.31%	B

Fuente: Datos de la investigación 2011

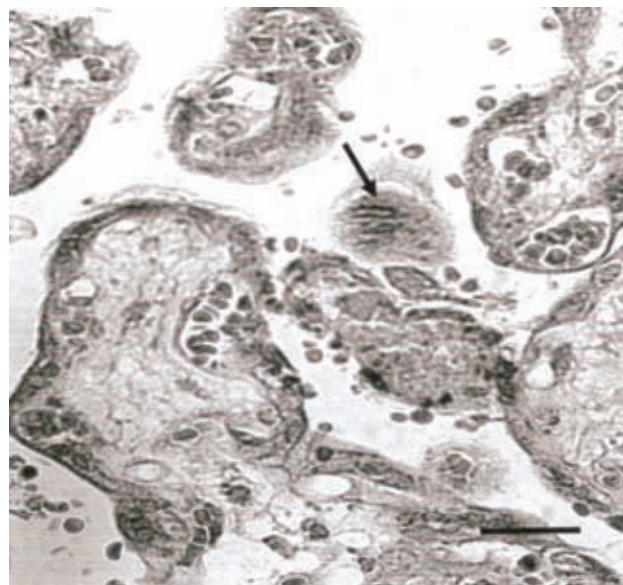


Figura 4. Vellosidad terminal con fibrosis estromal (flecha) en pacientes infectadas con VIH-1, obsérvese la ausencia de capilares sanguíneos en dicha vellosidad. H-E. 40x.

Calcificación

Acerca de la variable calcificación, el ANAVAR mostró que existen diferencias significativas entre las placetas de pacientes infectadas con el VIH-1 y las normales ($p=0.0003$). Sin embargo, entre las cinco regiones consideradas en las normales y en las patológicas no existen diferencias significativas ($p=0.2166$). En el Cuadro 5 se presentan los porcentajes de vellosidades con depósitos de calcio en las placetas de pacientes infectadas con el VIH-1 y las normales.

La prueba de comparaciones múltiples de Tukey mostró que las placetas de pacientes infectadas con el VIH-1 presentan mayor porcentaje de vellosidades con depósitos de calcio (3.09%) que las normales (0.44%). En la Figura 5 se muestran las vellosidades en la placenta de las pacientes infectadas con el VIH-1.

Cuadro 5. Porcentaje de vellosidades con depósitos de calcio en placetas de pacientes infectadas con el VIH-1 y placetas de pacientes normales

Placentas	Porcentaje de vellosidades con cambios fibrinoides	Prueba de Tukey
VIH-1	3.09%	A
Normales	0.44%	B

Fuente: Datos de la investigación 2011



Figura 5. Vellosidad fibrótica en placetas de pacientes infectadas con VIH-1 y abundantes depósitos de calcio. H-E. 40x.

Inmadurez vellosa

La inmadurez se determinó con base en la prevalencia de vellosidades intermedias inmaduras. De igual manera, se clasificaron y cuantificaron el resto de las vellosidades codales. En el Cuadro 6 se presentan los porcentajes de vellosidades intermedias inmaduras, troncales, maduras y terminales en placetas de pacientes infectadas con el VIH-1 y las normales.

Sobre el porcentaje de vellosidades intermedias inmaduras, intermedias maduras y terminales el análisis de varianza (ANAVAR) mostró diferencias significativas ($p<0.05$) entre las placetas de pacientes infectadas con el VIH-1 y las normales, aunque entre las cinco regiones consideradas (Mi, M2, M3, M4 y Pc) en las placetas de

pacientes infectadas con el VIH-1 y en las normales, no existieron diferencias significativas ($p>0.05$). Lo cual sugiere que las regiones en las placetas normales y patológicas tienen un comportamiento homogéneo con respecto a la variable en estudio.

Como se observa en el Cuadro 6, los grupos de medias formados a partir de la prueba de Tukey indicaron que las placetas de pacientes infectadas con el VIH-1 tienen mayor porcentaje de vellosidades intermedias inmaduras (28.71%) que las normales (1.04%) (Figura 6). El porcentaje de vellosidades intermedias maduras y terminales prevalece en las placetas normales a término, indicando un patrón de crecimiento y madurez adecuado a la edad gestacional.

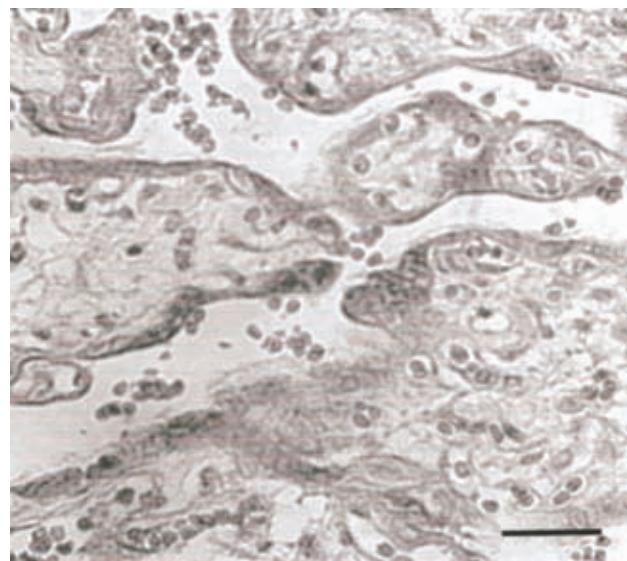


Figura 6. Regiones de vellosidades intermedias inmaduras infectadas con VIH-1. H&E. 40x.

Cuadro 6. Porcentaje de vellosidades intermedias inmaduras, troncales, intermedias maduras y terminales en placetas de pacientes infectadas con el VIH-1 y placetas de pacientes normales

Vellosidades placentarias	Placentas VIH-1	Tukey	Placentas normales	Tukey	Valor p
Vellosidades intermedias inmaduras	28.71%	A	1.04%	B	0.0001*
Vellosidades troncales	1.61%	A	1.69%	A	0.4320 ns
Vellosidades intermedias maduras	16.94%	B	26.66%	A	0.0000*
Vellosidades terminales	52.74%	B	70.61%	A	0.0006*

Fuente: Datos de la investigación 2011

ns: no significativo

* $p<0.05$

DISCUSIÓN

La morfología de la vellosidad placentaria se modifica a lo largo de la gestación. El sinciciotrofoblasto persiste y los núcleos se agrupan constituyendo conglomerados denominados nódulos o nudos sinciciales. No hay acuerdo unánime sobre el significado de estos conglomerados, ya que los mismos han sido descritos en placetas normales y en las placetas provenientes de pacientes complicadas con preeclampsia¹³ y en placetas expuestas al VIH-1.¹⁴ Es de notar que en estas últimas la cantidad de nódulos sinciciales fue superior a los valores normales reportados por Majumdar y sus grupo.¹³

Los nódulos sinciciales son especializaciones del sinciciotrofoblasto caracterizados por una acumulación de núcleos, en los que se evidencian cambios apoptósicos.^{15,16} Se ha sugerido que un incremento significativo de nódulos sinciciales podría ser consecuencia de una mala perfusión del árbol vellositario (hipoxia) que provoca la inhibición de la proteína antiapoptósica bcl-2, con lo que se incrementaría la muerte del sinciciotrofoblasto provocando la reducción del grosor del mismo y, de manera simultánea, el incremento de estos núcleos apoptósicos¹³ ó nódulos sinciciales. Otros investigadores¹⁴ han reportado pocos nódulos sinciciales en las placetas de pacientes VIH-1 positivas sin tratamiento antirretroviral. Esto permite sugerir que el incremento de dicha alteración se debe al efecto del medicamento, ya que ha sido descrito que la AZT induce apoptosis en las células trofoblásticas humanas cultivadas.¹⁷ El mayor porcentaje en las regiones centrales lo ocasiona el hecho de que en esas zonas las vellosidades están rodeadas de una mayor concentración de oxígeno plasmático (hiperoxia) que impide el desarrollo de la vellosidad.¹⁰

La bibliografía señala que los agentes infecciosos pueden causar daño y muerte celular. En las placetas expuestas al VIH-1 éste podría ser un mecanismo que explique cómo este tejido protege al feto de la infección viral en 80 a 90% de los casos, ya que la unión virus-célula y la integración dentro del ADN trofoblástico podría producir la remoción o exfoliación de células infectadas a la circulación materna.¹⁸ Si los tratamientos antirretrovirales pueden incrementar la apoptosis del trofoblasto y su posterior remoción, como ha sido descrito en células cultivadas, se podría explicar el efecto benéfico de tales tratamientos y la consiguiente reducción de la transmisión vertical del VIH-1.

Molina y su grupo¹⁹ describieron que, al igual que la mayor parte de los epitelios, el trofoblasto sano sufre constantes transformaciones, que incluyen la degeneración del trofoblasto (apoptosis) y la consiguiente deposición de sustancia fibrinoide. Si este evento es considerado un fenómeno normal en la placenta, sobre todo durante el tercer trimestre del embarazo,²⁰ es de esperar que las vellosidades placentarias de pacientes normales y ubicadas en cualquier región del tejido presentarán deposición de dicha sustancia. Los resultados del fibrinoide encontrados por nosotros en placetas de embarazadas VIH positivas coinciden con los expuestos por Anderson y colaboradores¹⁴ quienes han descrito una excesiva deposición de fibrinoide en las placetas de pacientes infectadas con el VIH-1.

Sin embargo, la deposición de dicha sustancia probablemente es consecuencia de una reacción inmunológica, como ha sido descrito en la enfermedad trofoblástica gestacional.²¹ La deposición de esta sustancia eosinófila podría servir para atrapar virus¹⁴ y linfocitos infectados e impedir su entrada al estroma y capilares vellosos.

Los resultados del edema coinciden con los reportados por Anderson y su grupo¹⁴ y por Horn y Rose²² quienes describieron esta alteración en las placetas expuestas a infecciones virales.

El edema, como un evento lentamente generalizado en el árbol vellositario placentario, impide la llegada de nutrientes y gases al feto, y favorece el incremento de alteraciones en las vellosidades coriales como nódulos sinciciales y la deposición de sustancia fibrinoide, ya descritas en las placetas de pacientes expuestas al VIH-1 y al AZT. Así, por ejemplo, la trombosis de los vasos troncales de la vellosidad favorecerían el edema placentario. Las interrupciones en la membrana plasmática del trofoblasto, probablemente provocadas por la entrada del virus, pudieran estar originando cambios en la permeabilidad del agua y producir el ingreso violento de líquido con la expresión de edema.

Los resultados sobre fibrosis coinciden con los expuestos por Bhoopat y su grupo⁶ quienes reportaron fibrosis estromal en placetas normales e infectadas con el VIH-1 no tratadas con antirretrovirales. Otros investigadores²² han demostrado dicha alteración en placetas expuestas a infecciones virales.

Las placetas analizadas en este trabajo son del último trimestre del embarazo cuyas vellosidades están sometidas a procesos de renovación y reparación; por lo tanto,

pueden encontrarse vellosidades fibróticas. Los estudios recientes demuestran que un incremento en esta variable puede observarse en situación de hipoxia donde al disminuir las tensiones de oxígeno aumenta la producción de citocinas,²³ como TNF- α y la IL-1 que promueven la muerte celular del trofoblasto, no teniendo la vellosidad el tejido para nutrirse, la desaparición de los vasos es inminente y el factor de crecimiento transformador beta-1 (TGF0-1) promueve el aumento en la producción de fibronectina, colágeno tipo I y colágeno tipo III por los fibroblastos del estroma. Este incremento en la producción de matriz contribuye a la formación de vellosidades fibróticas. A pesar de que las vellosidades placentarias de pacientes infectadas con el VIH-1 se encontraban en un ambiente de hipoxia, el porcentaje de vellosidades fibróticas se mantiene entre los valores normales, esto podría estar ocasionado por el tratamiento antirretroviral que suprime la producción de TNF- α como ha sido descrito por Pomprasert y colaboradores,²⁴ además de disminuir la replicación viral.

Los depósitos de calcio en la placenta humana se han observado en las placetas de pacientes sanas, producto del envejecimiento normal del tejido²⁵ y en las expuestas a agentes virales tales como citomegalovirus²² y VIH-1.^{3,26}

El depósito de cristales se realiza directamente sobre alguna estructura intracelular, probablemente microfilamentos citoplasmáticos, glucoproteínas o fibrinoide en etapas de degeneración, de notable visualización en la placenta humana a término.²⁷ No obstante, la deposición también puede realizarse extracelularmente²⁸ en relación con la sustancia fibrinoide o fibras de colágeno localizadas en el estroma vellositario y en la capa media de los vasos de las vellosidades troncales. Estos mecanismos podrían explicar los elevados porcentajes de vellosidades placentarias con depósitos de calcio en las pacientes con VIH-1 y tratadas con AZT. Las vellosidades tienen una deposición excesiva de sustancia fibrinoide, que podría representar el factor inicial para la calcificación vellosa.^{29,30}

La placenta, en su proceso normal de maduración sufre una serie de cambios regresivos o degenerativos (deposición fibrinoide, calcificaciones, fibrosis, edema) que se consideran normales.³⁰ Algunos factores como virus y medicamentos antirretrovirales, pueden incrementar la proporción de estas lesiones. Estas alteraciones pueden aparecer en cualquier región de la placenta, razón por la cual en nuestro estudio se analizaron las cinco regiones del tejido.

Si bien es cierto que las placetas normales a término presentaron el patrón de crecimiento correspondiente, las de pacientes infectadas con el VIH-1 y tratadas con AZT, mostraron una proporción de vellosidades intermedias inmaduras del 28.71% que superó el porcentaje normal, lo cual indica inmadurez placentaria.

La inmadurez del tejido placentario ha sido descrita en procesos virales como: rubéola, citomegalovirus²² y en pacientes infectadas con el VIH-1 sin tratamiento antirretroviral.³¹ Las placetas de pacientes infectadas con el VIH-1 y tratadas con AZT tienen una morfología normal no indicándose la existencia de inmadurez placentaria.³² En la presente investigación esta condición del desarrollo quizás se manifestó por una disminución del aporte de oxígeno (hipoxia) hacia estas estructuras, como consecuencia de una mala perfusión placentaria que afecta el transporte de nutrientes y gases hacia el feto. El edema veloso, la deposición de fibrinoide y la calcificación observadas en altas proporciones en las placetas de embarazadas infectadas con el VIH-1 contribuyeron, en parte, a la aparición de la hipoxia descrita. El VIH-1 y los tratamientos antirretrovirales son capaces de inhibir el crecimiento de las células trofoblásticas cultivadas e interferir con la producción de hormonas (HCG, progesterona), necesarias para el desarrollo del tejido placentario y el mantenimiento del embarazo, esto permite sugerir que un descenso en la síntesis y secreción de las hormonas placentarias podría contribuir a la inmadurez señalada.³³

A pesar de que las vellosidades intermedias maduras y terminales se encontraron en un bajo porcentaje en las placetas expuestas al VIH-1, el embarazo continuó y el feto supervivió. Estas condiciones adversas pueden afectar el desarrollo fetal y la subsecuente morbilidad y mortalidad infantil. Los niños nacidos de madres seropositivas al VIH-1 y tratadas con zidovudina resultaron de menor peso que los recién nacidos de madres sanas, lo que nos hace pensar que hay cierta restricción del crecimiento uterino y al no conocer la evolución posterior se dificulta pronosticar la transmisión.

Estos resultados difieren de los reportados por Tschenning-Casper y su grupo³² quienes afirman que las placetas no se infectan y permanecen histológicamente normales, negativas al VIH por inmunocitoquímica y PCR cuando son tratadas con zidovudina.

En esta investigación fue imposible conocer si los cambios degenerativos observados en las vellosidades

fueron producto del efecto citopático viral, de la actividad farmacológica de la AZT o de la combinación de ambos. Las alteraciones en el espacio intervelloso, como la trombosis intervellosa, depósitos de fibrina e infartos así como daños en la pared de los vasos troncales³⁴ han creado un ambiente propicio para estos cambios. Una visión ultraestructural de la vellosidad en las condiciones analizadas ha sido recientemente descrita.^{35,36} No obstante, esta serie de alteraciones morfológicas que anteriormente no habían sido descritas ni cuantificadas en las placetas expuestas al VIH-1 son de importancia para el entendimiento de los mecanismos de la transmisión vertical del virus porque las lesiones en el tejido vellositario incrementan la posibilidad de transmisión.³⁷ La mayor parte de las investigaciones actuales se han dirigido a estudiar la epidemiología de los niños nacidos de madres seropositivas al VIH-1 dejando a un lado el estudio anatomo-patológico de las placetas que mantuvieron ese embarazo, y que podrían proveer información útil para comprender los mecanismos subyacentes a la lesión. Los cambios morfológicos aquí reportados sugieren que la capacidad de la placenta de transferir nutrientes y gases pudiera estar disminuida, como se deduce de la baja relación de peso fetal y peso placentario cuyos recién nacidos podrían tener secuelas motoras, cognitivas y sensoriales durante su niñez.³⁷

En la transmisión vertical del VIH-1 pueden intervenir numerosos factores, muchos de ellos todavía no aclarados;^{38,39} esta forma de transmisión es sumamente compleja y sobrepasa los límites de este trabajo.

CONCLUSIONES

Las placetas de embarazadas infectadas con el VIH-1 y tratadas con AZT presentaron un alto porcentaje de vellosidades afectadas con: inmadurez, nódulos sincitiales, cambios fibrinoides, edema y calcificaciones, que superan los valores reportados en los controles y en la literatura. Lesiones que pudieran estar incrementando la transmisión del VIH-1.

La población de vellosidades en cada una de las placetas analizadas de mujeres infectadas con el VIH-1 tratadas con AZT como las de embarazadas sanas es heterogénea al haber diferencias significativas ($p>0.05$) en las variables estudiadas, excepto en la fibrosis estromal, lo que indica que las vellosidades en el grupo de estudio han sido afectadas por el VIH-1 y el retroviral.

La población de vellosidades es variable según las lesiones encontradas en una placenta normal y en una placenta con VIH-1 tratada con AZT ($p<0.05$); cada placenta se mostró distinta en el grupo estudio al estar su población de vellosidades expuesta a estos dos factores.

Finalmente, las alteraciones histopatológicas reportadas sugieren que la barrera placentaria no está en las mejores condiciones para la transferencia de gases, nutrientes y metabolitos, lo que podría favorecer la disminución en el peso de los recién nacidos y de la placenta.

Agradecimientos

A la Coordinación Administrativa de la Facultad de Ciencias de la Salud, Núcleo Aragua, por el fondo fijo institucional para el CIAOANA. A FUNDACITE Aragua, por el financiamiento parcial a esta investigación. Al personal del Departamento de Obstetricia y Ginecología del Hospital Central de Maracay, por facilitar el material de estudio y su historial clínico. A la T.S.U. Laury Rosely de Ovalles, por transcribir el manuscrito.

REFERENCIAS

1. D'Costa GF, Khadke K, Patil YV. Pathology of placenta in HIV infection. Indian J Pathol Microbiol, 2007; 50:515-519.
2. Miller RK, Ebbesen P, Popek EJ, Palliotti B, Sleikh A, Roberts D et al. The role of the placenta in the vertical transmission of HIV and other infections agents - A workshop report. Trophoblast Research, 1998; 12:225-235.
3. Jauniaux E, Nessmann C, Imbert MC, Meuris S, Puissant F, Hustin J. Morphological aspects of the placentas of HIV pregnancies. Placenta, 1988; 9:633-642.
4. Chandwani S, Greco MA, Minal K, Antoine C, Krasinski K, Borkowski W. Pathology of human immunodeficiency virus expression in placentas of seropositives women. J Infect Dis, 1991; 163:1134-1138.
5. Schwartz DA, Sungkarat S, Shaffer N, Laosakkitiboran J, Supapol W, Charoenpanich P et al. Placental abnormalities associated with immunodeficiency virus type 1 infection and perinatal transmission in Bangkok/Thailand. J Infect Dis, 2000; 182:1652-1657.
6. Bhooapat L, Khunamorpong S, Sirivatanapa P, Rhitaporn T, Lertsrimongkol P, Thomer PS et al. Chorioamnionitis is associated with placental transmission of human immunodeficiency virus-1 subtype E in the early gestational period. Mol Pathol, 2005; 18:1357-136.
7. Loga FM, Driscoll SG, Munro HN. Comparison of placental from two socioeconomic groups. I. Morphometry. Pediatrics, 1972; 50:24-31.
8. Butlerys M. HIV During Pregnancy Preventing Vertical HIV Transmission in the Year 2000: Progress and Prospects - A Review. Trophoblast Research, 2001; 15:S5-S12.

9. Connor E.M, Sperling RS, Gelber R, Kiselev P, Scott G, O'Sullivan MJ et al. Reduction of matemam-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. *N Engl J Med* 1994;331:1173-1180.
10. Benirschke K, Kaufmann P. Pathology of the Human Placenta 4ta Ed. New York: Springer-Verlag, 2000.
11. Lewis SH, Perrin E. Pathology of the Placenta. New York: Churchill Livingstone, 1999.
12. Cytel. Statxact 8. User manual. Cambridge: Cytel software, 2000 pp. 1303.
13. 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.
14. Anderson VM, Zevallos E, Gu J. The HIV-exposed placenta morphologic observations and interpretation. A review. *Trophoblast Research*, 1994; 8:47-65.
15. Austgulen R, Isaksen CV, Chedwick L, Romundstad P, Vatten L, Craven C. Pre-eclampsia: associated with increased syncitial apoptosis when the infant is small for gestational age. *J Reprod Immunol*, 2004; 61:39-50.
16. Thiet MP, Suwanvanichkij V, Hasselblatt K, Yeh J. Apoptosis in human term placenta. A morphological and gene expression study. *Gynecol Obstet Invest*, 2000; 50:88-91.
17. Collier AC, Hellwell RJ, Keelan JA, Paxton JW, Mitchell MD, Tingle MD. 3'-Azido-3'-deoxythymidine (AZT) induces apoptosis and alters metabolic enzyme activity in human placenta. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2003; 192:164-173.
18. Anderson VM. The placental barrier to maternal HIV infection. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 1997; 24:797-820.
19. Molina VR, Romero AT, Bermúdez I, Flores J, Fuenmayor J, Nunez JR. y cols. Factor de necrosis tumoral-alfa en el suero de embarazadas normales y preeclámpicas. *Gac Med Caracas*, 2001; 109:526-531.
20. Mayhew TM, Bowles C, Orme G. A stereological method for testing whether or not there is random deposition of perivillous fibrin-type fibrinoide at the villous surface: description and pilot applications to term placentae. *Placenta*, 2000; 21:684-692.
21. Scucces MG, Castejón OC. Lesiones predictivas de malignidad en la membrana basal de mola hidatidiforme. *Rev Obstet Ginecol Venez*, 2006;66:151-158.
22. Horn L, Rose I. Placental and fetal pathology in intrauterine viral infections. *Intervirology*, 1998;41:219-225.
23. Wang X, Athayde N, Trudinger B. A proinflammatory cytokine response is present in the fetal placental vasculature in placental insufficiency. *Am J Obstet Ginecol*, 2003; 189:1445-1451.
24. Pomprasert S, Faye A, Mary JY, Dolcini G, Leechanachai P, Chaouat G, Ngo N, Barré-Sinoussi F, Menu E. Down modulation of TNF-alpha mRNA placental expression by AZT used for the prevention of HIV-1 mother-to-child transmission. *Placenta*, 2006; 27:989-995.
25. Nesmann C, Laroche JC. Atlante di patología placentare. Roma: Edizioni Internazionali, 2001.
26. Bailao LA, Osborne NG, Rizzi MC, Bonilla-Musoles F, Duarte G, Bailao TC. Ultrasound markers of fetal infection part 1: viral infections. *Ultrasound Q*, 2005; 21:295-308
27. Villegas H, Carrillo J, Paredes Y, Barron A, Karchmer S. Estudio ultraestructural de placentas en mujeres seropositivas para el VIH-1. *Ginecol Obstet Méx*, 1994; 62:136-152.
28. Poquii SH, Bostrom KI, Demer LL, Skinner HC, Koos BJ. Placental calcification: a metastatic process? *Placenta*, 2001; 22:591-596.
29. Agababov RM, Abashina TN, Suzina NE, Vainshtein MB, Schwartsbord PM. Link between the early calcium deposition in placenta and nanobacterial - like infection. *J Biosci*, 2007; 32:1163-1168.
30. Castejón OC, Molinaro VMP. Cambios degenerativos coríonicos y su relación con desórdenes hipertensivos en casos de desprendimiento prematuro grave de placenta normoinserta. *Gac Méd Caracas*, 2003; 111:117-122.
31. Backé E, Jimenez E, Unger M, Scháfer A, Vocks-Hauck M, Grosch-Wörner I, Vogel M. Vertical human immunodeficiency virus transmission: a study of placental pathology in relation to maternal risk factors. *Am J Perinatal*, 1994; 11:326-330.
32. Tscherning-Casper C, Papadogiannakis N, Anret M, Stolpe L, Lindgren S, Bohlin AB, Albert J, Fenyó EM. The trophoblastic epithelial barrier is not infected in full-term placentae of human immunodeficiency virus-seropositive mothers undergoing antiretroviral therapy. *J Virol*, 1999; 73:9673-9678.
33. Pollioti BM, Gnall-Sazenski S, Langhlin TS, Miller RK. Inhibitory effects of human chorionic gonadotropin (hCG) preparations on HIV infection of human placenta in vitro. *Placenta*, 2002; 23:102-110.
34. Castejón SOC, López GAJ, Pérez Y LM, Castejón MOC. Alteraciones morfológicas en el espacio intervelloso y en los vasos de vellosidades troncales de embarazadas infectadas con vih-1 tratadas con zidovudina. *Rev Electr Portales Medicos.com* 2009; 4:19;442.
35. Castejón S OC, López GAJ; Castejón MOC. Aspectos Ultraestructurales de la vellosidad placentaria infectada por vih y tratada con zidovudina. *Ginecol Obstet Mex* 2010; 78:335-344.
36. Villegas CH, Carrillo FJ, Paredes V Y, Flores RE, Arredondo GJL, Gorbea RM. Estudio comparativo de la placenta de madres seropositivas a vih. Análisis Ultraestructural. *Ginecol Obstet Mex* 1996; 64:167-176.
37. Volpe JJ. Brain injury in premature infants: a complex amalgam of destructive and developmental disturbances. *Lancet Neurol*, 2009; 8:110-124.
38. Vidricaire G, Tremblay MJ. For a better understanding of the mechanisms involved in vertical transmission of HIV. *Med Sci (Paris)*, 2004; 20:784-787.
39. Al-Husaini AM. Role of placenta in the vertical transmission of human immunodeficiency virus. *J Perinatal*, 2009; 29:331-336.