

Enfermedad hipertensiva específica del embarazo (pre-eclampsia): Estudio de la matriz extracelular (colágeno I y III, fibronectina)

Luz Alba Silvera Arenas*; Dora Menezes**; Ester Mota***; Arturo Arana-Pino****; Henrique Lenzi*****; Carmen Barrios de Zurbarán*****

Resumen

La enfermedad hipertensiva específica del embarazo (EHEE) es una de las causas más frecuentes de morbi-mortalidad materno-fetal. Presenta una incidencia del 6-10% en los países desarrollados y en vías de desarrollo.

Este trabajo corresponde al 6,25% de todas las pacientes internadas en la maternidad de la Santa Casa de la Misericordia de Río de Janeiro (Brasil), de junio de 1994 a junio de 1996, con un estudio histopatológico de 21 placentas de gestantes con EHEE, y con una edad media de 26 años.

Fragmentos de placenta fueron fijados en formol al 10%, incluidos en parafina, las secciones (de 5µ.m) fueron coloreadas con hematoxilina-eosina-floxina, reticulina de Gomori, tricrómico de Masson, PAS en micro-ondas y ácido fosfomolibdico-Picrosirius red (secciones a 30µm fueron analizadas con luz polarizada y microscopio de barradura confocal a láser- LSM 410, Zeiss). El estudio inmunohistológico fue realizado a través de la técnica estreptavidina, marcada con peroxidasa para detección de fibronectina.

Este estudio demostró alteraciones en el circuito vascular materno-fetal, traducidos por necrosis hialina de la pared de los vasos, aumento del número de nódulos y brotes sinciales, producción exagerada de colágeno I, con disminución relativa del colágeno III en el estroma vellosos y aumento de la fibronectina en las vellosidades coriales.

Las lesiones vasculares (comprobadas por las técnicas utilizadas) ocasionan hipoxia, la cual desencadena los eventos fisiopatológicos responsables del cuadro clínico.

La etiopatogenia de la EHEE continúa siendo desconocida, y tiene como posibles causas: factores genéticos, endocrinos, metabólicos, inmunológicos y biomoleculares.

Palabras claves: Enfermedad hipertensiva específica del embarazo (EHEE), matriz extracelular, colágeno I y III, fibronectina.

Abstract

Pregnancy specific hypertensive disease (EHEE) is one of the most frequent causes of maternal and fetal morbidity - mortality. . it has an incidence of 6 to 10% in developed and underdeveloped countries.

This investigation corresponds to 6.25% of all the hospitalized patients in the maternity ward of Santa Casa de la Misericordia in Rio the Janeiro (Brazil) from June 1994 to June 1996, in a histopathological study of 21 pregnant patients with EHEE and with a median age of 26.

Placenta fragments were fixated in 10% formol, immersed in paraffin, the sections (5µ.m) were stained with hematoxilin-eosine-floxine, Gomori reticuline, Masson trichromic, PAS in microwave, and phosphomolibdenic acid-

* MD. PhD., Universidad Federal Fluminense, Niteroi (Brasil). Departamento de Ciencias Básicas Médicas, Universidad del Norte. (e-mail: lsilvera@guayacan.uninorte.edu.co)

** Médico patólogo. PhD. Hospital Santa Casa de la Misericordia, Río de Janeiro (Brasil).

*** Bióloga. Magister, Fundación Oswaldo Cruz, Río de Janeiro (Brasil).

**** Biólogo.

***** Médico Patólogo, Fundación Oswaldo Cruz, Río de Janeiro (Brasil).

***** Médico. Docente Departamento de Ciencias Básicas Médicas, Universidad del Norte.

Picrosirius red (30µm. Sections were analyzed with polarized light using a microscope with confocal vision. A láser- LSM 410, Zeiss). The immunohistological study was done through the streptavidine technique marked with peroxidase for fibronectin detection.

This study showed alterations in the mother-fetus vascular circuit shown by hyaline necrosis of the vessels walls, increment of number of nodules and syncitial sprouts, excessive collagen production I, with relative decreasing of collagen II in the stroma vellosum and increment of fibronectin in the corial villi.

Vascular lesions (proven by the techniques used) are the causes of hypoxia, which triggers the physiopathological events responsible for the clinical features.

The etiopathogeny of the EHEE still continues to be unknown and its possible causes are genetic, endocrine, metabolic, immunologic and biomolecular factors.

Key words: Pregnancy specific hypertensive disease, extracellular matrix, collagen I and III, fibronectin.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad específica hipertensiva del embarazo (EHEE), pre-eclampsia, es una de las principales causas de mortalidad materno-fetal en los países industrializados y no industrializados, con una incidencia de 6-10% de todas las gestantes (Zhou *et al.*, 1997).

En el estado de Río de Janeiro fue la primera causa de óbito materno durante el período 1979-1987 y correspondió al 16% de las muertes del estado y al 32% de los óbitos de la capital (Silva, 1992).

La etiopatogenia de la EHEE continúa siendo desconocida, por lo cual ha sido denominada la «enfermedad de las teorías»; muchos mecanismos son implicados en su génesis. La isquemia parece ser la responsable de una serie de reacciones que producirían los signos y síntomas: hipertensión, edema, proteinuria, y algunas veces daño hepático severo con aumento de las enzimas hepáticas, trastornos hematopoyéticos, que llevan a la coagulopatía de consumo y coma profundo (Cunha *et al.*, 1991; Almeida Filho, 1993; Neme, 1994). Entre los sistemas más implicados encontramos el eje renina-angiotensina- aldosterona (Chesley *et al.*, 1965; Las Heras, 1978; Zeeman y Dekker, 1992; Miyashiro, 1994).

Los mecanismos inmunológicos que consideran al feto como aloingerto (paterno), con los cromosomas del padre actuando como antígeno, constituye también una teoría bien aceptada (Mincheve-Nilson *et al.*, 1994). El sistema inmune materno reacciona, lo cual produce anticuerpos de tipo IgM e IgG, y forma complejos inmunes que desencadenan un

proceso inflamatorio por la acción del sistema del complemento, principalmente C1q y C3a. Esta reacción determina en los vasos endometriales endarteritis disminución de la media y la íntima, lo cual provoca disminución del flujo sanguíneo útero-placentario e isquemia (Labarrera, 1987; Zeemang y Dekker, 1992). La EHEE es más frecuente en primigestas, mujeres que cambian de pareja o hacen uso de anticonceptivos prolongadamente.

Otro sistema implicado es el de las prostaglandinas, sustancias derivadas del ácido araquidónico responsables de mantener el flujo útero-placentario. También las cininas, tales como caliceínas, endotelinas y algunos productos del metabolismo del oxígeno y radicales libres son implicados en la génesis de la EHEE (Zeeman y Dekker, 1992).

Los factores genéticos han sido estudiados. Ward en 1993 describió una molécula variante del angiotensinógeno presente en abuela, madre e hija de una misma familia que habían presentado EHEE.

En las últimas décadas, el compromiso de la placenta en este síndrome ha sido largamente estudiado, ya que esta enfermedad se presenta en el embarazo molar.

Además, numerosos mecanismos son implicados como posibles causas de las alteraciones iniciales y relacionadas con los síntomas y signos clínicos asociados a la EHEE.

La isquemia útero-placentaria presenta diferentes grados de intensidad. La severidad de la isquemia produce una hiperplasia y proliferación de las células del sinciciotrofoblasto, lo cual aumenta el número de nódulos sinciciales (Tominage y Page, 1966;

Alvarez *et al.*, 1967, 1969; Raymond *et al.*, 1995). Estos cambios se producen supuestamente con la finalidad de reparar el daño del sincitiotrofoblasto, cada nódulo sincicial indica la gravedad del proceso isquémico placentario. Por otro lado, las alteraciones en los vasos fetales: proliferación de la media y de la íntima, con disminución del lumen, ha sido relatada en la literatura (Las Heras, 1978).

Los componentes macromoleculares de la matriz extracelular, tales como: Colágeno IV, laminina, fibronectina, heparan-sulfato (perlecan), constituyentes de la lámina basal, son importantes entre el medio intra y extracelular y tienen un papel fundamental y dinámico en el intercambio materno-fetal. Además, la lámina basal participa en los procesos de diferenciación celular, morfogénesis, invasión y migración, y también es importante en la difusión de células inflamatorias y neoplásicas (Damsky *et al.*, 1994).

El feto es un aloingerto paterno, donde el trofoblasto, representado por el sincitiotrofoblasto y citotrofoblasto, es el elemento importante en la implantación y reconocimiento de las macromoléculas del endometrio materno. La presencia en su membrana de receptores para el antígeno de histocompatibilidad de tipo clase IHLA-G es reconocido por las células del endometrio, y juega un papel crucial en la interacción del binomio materno-fetal. Este fenómeno es realizado por la acción de una serie de enzimas, entre las cuales encontramos las metaloproteinasas, que destruyen los elementos vasculares maternos, facilitan la implantación y, posteriormente, la nutrición fetal y la tolerancia materna (Khong, 1987; Lin *et al.*, 1993).

MATERIAL Y MÉTODO

Se estudiaron 21 placentas, de un total de 288 mujeres con diagnóstico de EHEE internadas en la enfermería 33 del Hospital Santa Casa Da Misericordia de la ciudad de Río de Janeiro (SCMRJ) de julio de 1994 a julio 1996. Murieron 34 fetos y a 21 de ellos se les practicó la necropsia en el Departamento de Patología Manoel Barreto-Netto.

Se realizó examen macro y microscópico de las placentas con coloraciones de rutina en el SCMRJ.

Las coloraciones especiales y estudios de microscopio de barradura confocal a láser y técnicas de Inmunohistoquímica para algunos componentes de la matriz extracelular (laminina, fibronectina, fibrinógeno), en el Departamento de Patología de la Fundación Oswaldo Cruz.

Examen morfológico

Las placentas fueron descritas macroscópicamente siguiendo las técnicas de Bernischke y Driscoll (1990) y se marcó el centro para localizar el lecho vascular. Para el estudio histológico se realizaron cuatro cortes en el disco placentario. Los cortes fueron fijados en formol al 10%, incluidos en parafina y cortados a 5 micras. Se utilizaron técnicas de coloraciones generales Hematoxilina-eosina-fluxina, ácido fosfomolibdico-picrosirius red (PMA-PSR) para colágeno I y III; reticulina de Gomori (para glicoproteínas colagénicas y no colagénicas).

El estudio Inmunohistoquímico fue realizado con la técnica estreptavidina marcada con peroxidasa (revelada con diaminobencidina) y anticuerpos secundarios biotilados utilizando anticuerpos Dako para fibronectina. El estudio se realizó con microscopio de barradura confocal a láser (LSM-410 Zeiss), se utilizó láser de He/En 543nm y filtro LP570. Este también se utilizó para leer las láminas coloreadas con PMA-PSR.

La documentación fotográfica de las figuras macroscópicas fueron escaneadas de diapositivas. Las imágenes del microscopio confocal fueron acopladas a cámara 3CCD-Hamamtsu C58-10. Las imágenes fueron importadas para el computador a través de «software» corel Draw 8.0 e imprimidas en Codonic NP 1000.

RESULTADOS

Aspectos Macroscópicos

La placenta tenía forma ovalada (11 casos) y redonda (8 casos). Infartos macroscópicos fueron detectados en siete placentas. Las placentas presentaron un espesor de 1 a 2 cm en promedio, sólo dos tenían 3 cm de espesor. En las figuras 1 y 2 se muestra las faces fetal y materna de dos placentas con EHEE.

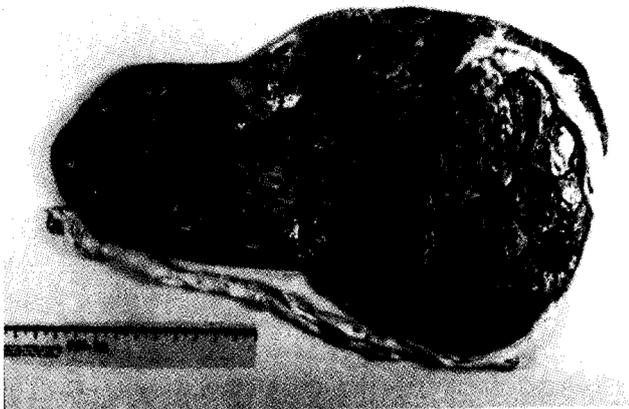


Figura 1. Placenta, *cara fetal*

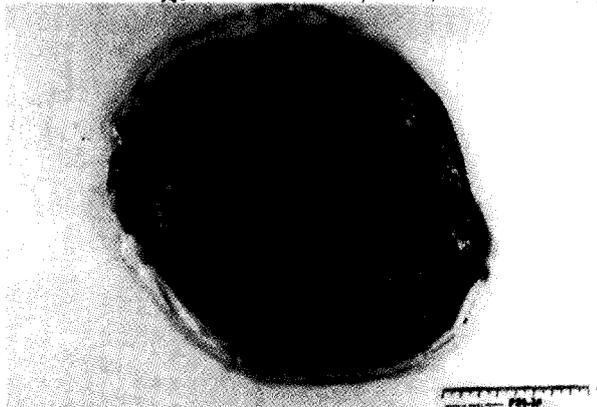


Figura 2. Placenta, *cara materna*

Aspectos Microscópicos

En el corion leve y en el amnios se encontraron macrófagos con pigmento de color castaño. En 5 placentas se presentaron lesiones vasculares caracterizadas por necrosis hialina y presencia de macrófagos xantomatosos.

Vasculopoyesis fue observada en un gran número de placentas a nivel de las vellosidades coriales (figuras 3 y 4. 200X).

En la coloración con PMS-PSR en las placentas con EHEE predominó el colágeno I, y en las normales, el colágeno III (figuras 5 y 6. 200X).

Todas las placentas presentaron aumento en el número de nódulos sinciciales (figura 7 200X).

DISCUSIÓN

En la gestación normal, durante el proceso de im-

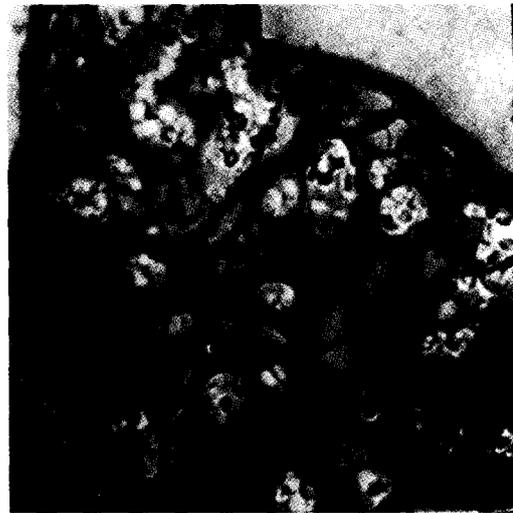


Figura 3. Vellosidad intermedia con vasculopoyesis 200X

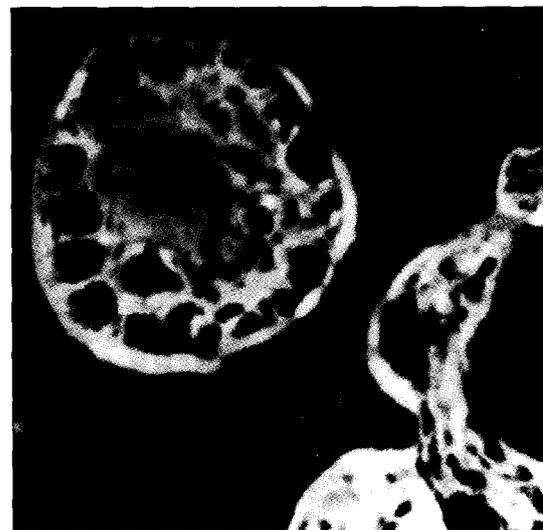


Figura 4. Corte transversal de vellosidad intermedia con fibrosis central y vasculopoyesis periférica. 200X.

plantación del cigoto, las células citotrofoblasto migratorio realizan dos ondas de invasión. La primera durante la 8ª y 12ª semana de gestación, y la segunda entre la 16ª y la 20ª semana. Tal hecho es expresado por la invasión del citotrofoblasto, con la producción de metaloproteinasas, inicialmente en las arterias espiraladas del lecho vascular placentario, a nivel del endometrio y, posteriormente, a nivel del miometrio. El citotrofoblasto invade la pared vascular y destruye sus capas músculo-elásticas, que son sustituidas por material hialino y eosinófilico, lo cual permite la dilatación de estos



Figuras 5 y 6. Coloración de PMS-PSR predominio del colágeno I sobre el III 200X



Figura 7. Nódulos sinciciales proliferados

vasos, y con eso proporciona un mayor flujo sanguíneo del útero a la placenta. En la membrana del citotrofoblasto hay receptores para integrinas $\alpha\beta 4$ que reconocen receptores de fibronectina localizados en la decidua.

En esta fase, las células del citotrofoblasto sustituyen el endotelio. En la gestación normal, aproximadamente 150 a 200 arterias del lecho vascular sufren esta alteración degenerativa. Cuando la segunda onda de invasión no ocurre a nivel del miometrio, se observa cierto grado de isquemia y engrosamiento de la pared de los vasos endometriales. Esto coincide con la proliferación de nódulos en las vellosidades terminales con aumento del colágeno I, fibrosis y proliferación en las vellosidades intermedias. Es ésta la causa estructural y vascular que determina las alteraciones útero-placentarias observadas en la EHEE (Herting, 1945; El-Krade, D. 1991, Damsky *et al.*, 1992; Raymond *et al.*, 1995).

La hipoxia en la EEHE parece ser un mecanismo vascular para la eliminación del aloingerto paterno (el concebido). Como se establece tardíamente por la deficiencia de la segunda onda de invasión del trofoblasto, posibilita al feto, en contrapartida, generar mecanismos de adaptación a la hipoxia. Esto es alcanzado por la producción compensadora de nuevos vasos sanguíneos (vasculopoyesis) (figuras 3 y 4) y aumenta el circuito vascular fetal en las vellosidades terminales.

El aumento en la matriz extracelular vellositaria del colágeno I (figura 8) es una tentativa paradójica de mantener niveles altos de oxígeno y de otros nutrientes, adaptando el concebido al difícil ambiente intra-uterino.

Este conflicto materno-fetal puede ocasionar la muerte del producto de la concepción o el nacimiento de niños adaptados pero portadores de una



Figura 8

serie de deficiencias (cardíacas, pulmonares, renales, encefálicas, y otras).

Por otro lado, por parte de la embarazada, la hipoxia determina liberación del eje renina-angiotensina II-aldosterona, con consecuente aumento de las cifras tensionales, retención hídrica y daño renal caracterizado por proteinuria intensa. El agravamiento del cuadro provoca alteraciones neurológicas que desencadenan crisis convulsivas (eclampsia). En los casos más graves hay compromiso hepático, trombocitopenia y coagulación intravascular diseminada evolucionando para coagulopatía de consumo o para desencadenamiento del síndrome de HELLP («Hemolysis, Elevated Liver Enzymes, Low Platelets»). Por lo tanto, parece no haber beneficio para ninguno de los dos lados, lo cual ejemplifica una incógnita más de la enfermedad humana.

CONCLUSIONES

1. Las lesiones vasculares deciduales (necrosis de la media con presencia de macrófagos vacuolados), aumento del número de nódulos sincitiales, lesiones del circuito vascular fetal, infarto y hemorragias son las alteraciones más sugestivas de EHEE.
2. Las alteraciones de la matriz extracelular, con aumento de colágeno I, fueron detectadas en el estroma de los ejes vellositarios, principalmente

con localización perivascular, lo cual muestra la importancia de ese mecanismo en la EHEE.

3. La EHEE es una enfermedad de origen multifactorial que tiene como punto de partida diversos eventos que desencadenan la hipoxia responsable por los eventos fisiopatológicos.

Bibliografía

- Almeida Filho, J.N. «Hipertensão Arterial na gestação». *Revista Brasileira de Medicina Ginecologia e Obstetrícia* 12: 463-468.
- Alvarez, H., Benedetti, W. L. y Krecl de Leonis, V. (1967). «Syncytial proliferation in normal and toxemic pregnancies». *Obstet Gynecol* 29: 637-643.
- Alvarez, H., Morel, R.L., Benedetti, W.L. y Scavarelli, M. (1969). «Trofoblast hiperplasia and maternal arterial pressure at term». *Am J Obstet Gynecol* 105: 1015- 1021.
- Benirschke, K. y Kaufman, P. (1990). «Pathology of the human placenta», in Benirschke, K. Kaufman, P. (eds.). *Hypertensive Disorders*. New York, Spinger-Verlag, p. 499-529.
- Billington, W. D. «Immunological aspects of normal and abnormal pregnancy Europ». *Obstet Gynecol Reprod Biol* 5: 147- 154.
- Chesley, L. C. , Talledo, E. y Boehler, C. S. (1965). «Vascular reactivity to angitesin II and norepinephrine in pregnant and non-pregnant woman». *Am J Obstet Gynecol*. 91: 837-842.
- Cunha, S. P., Yassin, A., Nogeira, A.A., Duarte, G., Mauad filho, F. (1991). «Hipertensão arterial na gravidez». *Revista Brasileira de Medicina Ginecol e Obstet II*: 128-134.
- Damsky, C. H. , Fitzgerald, M. L. y Fisher, S. H. (1992). «Distribution patterns of extracellular matrix components and adhesion receptors are components intricately modulated during first trimester cytotrofoblast differentiation along the invasive pathway in vivo». *J. Clin Invest* 89:210-222.
- Damsky, C. , Dibrach, C. , Lim, K. H. , Fitzgerald, M. L. , Mc Master, M. T. , Janatpour, M., Zhou, Logan, S. K. y Fisher, S. J. (1994). «Integrin Switching regulates normal trophoblast invasion». *Development*. 120(12): 3657 - 3666.
- Herting, A.T. 1945. «Vascular pathology in the hyper tensive, albuminuric toxemias of pregnancy clinics 4: 602-614.
- Koi, H.; Tachi, C., Tojo, H. Kubota, T., y Aso, T. (1995). «Effects of matrix protein and heparin-bining components in fetal bovine serum upon the proliferation of ectoplacental conecell in mouse blastocysts culture in vitro». *Biol-reprod*. 52(4) 759-770.
- Khong, T. Y. (1987). «Imunohistologic study of the leukocyt infiltrate in maternal uterin e tissues in normal and preeclamptic pregnancies at term». *An J Reprod Immunol Microbiol* 15: 1-8.
- Labarrere, C. A. (1987). «Placental bed biopsy technique and vascular lesions». *Am J Obstet Gynecol*, 1320-1321.
- Las Heras, J. (1978). «Morphometry and morphology of fetal

- stem arteries of human placenta in hipertensive diseases (toxemia) of pregnancy». Tese the degree of doctor philosophy . London, Canadá, p. 1-240.
- Lin, H., Mosmann, T. R. y Guilbert, I. (1993). «Synthesis of thelper-2type citokines at the maternal-fetal interface». *J Immunol* 151: 4562-4573.
- Mincheva-Nilsson, I., Baranov, V. y Yeung, M. M. W. (1994). «Immunomorphologic studies of human decidua-associated. lymphoid cell in normal early pregnancy». *J Immunol* 152: 2020-2031.
- Miyashiro, G. (1994). «Taxemia Gravidica: Uma contribuição para a compresão e prevenção «doenças das teorias». Tese para obter o grau de mestre Escola Nacional de Saúde Pública. Rio de Janeiro (Brasil). 240 P.
- Neme, B. (1994). «Doença hipertensiva específica da gestação: Pre-eclampsia eclampsia». *Obstetrícia. Resende*. 2ª ed., 1994, p. 599-670.
- Raymond, W., Redline, M.D. y Patterson, P. (1995). «Pre-eclampsia is associated with an excess of proliferative Immature Intermediate». *Trophobast. Humpathol* 26: 594-60.
- Silva Ks. (1992). «Mortalidad materna: Avaliação da situacao no Rio de Janeiro no periodo de 1977 a 1987». *Cadernos de Saúde Pública, Rio de Janeiro*. 80: 229-233.
- Ward, J., Hata, A. e Jeunemaitre, X. (1993). «A molecular variant of angiotensinogen associated with preeclampsia». *Nature Genetics* 4: 5961.
- Zeek, P.M. y Assali, N.S. (1950). «Vascular changes in the decidua associated with eclamptogenic toxemia of pregnancy». *Am J Clin Pathol*. 20: 1099-1109.
- Zeemang, G., Dekker GA. (1992). «Phatogenesis of preeclampsia: a hypotesis». In: sibaí 8M (ed.) Hypertension in Pregnancy. *Clin obstet gynecol*. 34: 317-337.
- Zhou, Y., Chiu, K. y Brescia, R.J. (1993). «Increased depth of trophoblast invasion after chronic constriction of the ower aorta in rhesus monkeys». *Am J Obstet Gynecol* 169: 224-229.
- Zhou, Y., Damsky, D. y Fisher, S. (1997). «Human cytotrophoblast adopt vascular phenotype as they different a strategy for sucessful endovascular invasion». *J.Clin. Invest*. 99 (9): 2139- 2151.