



UNIVERSIDAD DE MURCIA

FACULTAD DE MEDICINA

**CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA Y EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA
DE LOS MARCADORES p53 Y p21 EN EL TROFOBLASTO PLACENTARIO
EN PREECLAMPSIA**

**María Isabel Oviedo Ramírez
2016**



UNIVERSIDAD DE MURCIA

FACULTAD DE MEDICINA

Tesis Doctoral

**CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA Y EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA
DE LOS MARCADORES p53 Y p21 EN EL TROFOBLASTO PLACENTARIO
EN PREECLAMPSIA**

Dirigida por:

Prof. Dr. Dña. María Dolores Pérez Cárceles

Prof. Dr. Don Eliseo Blanco Carnero

**María Isabel Oviedo Ramírez
2016**

A mis seres queridos, que no están ya físicamente a mi lado, pero se encuentran siempre en mis pensamientos y oraciones: A mi padre el Dr. Angel Oviedo Hernández y a mi abuelita Mamalin. Para ti en especial, ojos hermosos, mi amigo del alma y mi hermano pequeño por elección, Albus Enciso Razo y a sus padres Fito e Irene, gracias por dar al mundo a ese ser tan excepcional.

A todos y cada uno de mis compañeros del Servicio de Anatomía Patológica, ustedes me aportan algo nuevo cada día. Es un honor trabajar con ustedes. Gracias por su cariño y respeto. Es mutuo, porque después de tantos años ya somos una gran familia. A José Luis, por estar siempre ahí

A José Manuel Guzmán Oviedo mi ojito derecho, gracias por darme un motivo para seguir luchando. Todo lo que he hecho y lo que hago es siempre por ti.

Agradecimientos

A la Dra. María Dolores Pérez Cárceles por su infinita paciencia, saber estar y su gran capacidad profesional y, sobre todo, por haberme dado la oportunidad de realizar, guiada por ella, este proyecto tan importante para mí. Al Dr. Eliseo Blanco Carnero, por el enorme interés prestado y la invaluable ayuda que me proporcionó durante la realización de este trabajo y que, a pesar de sus múltiples ocupaciones, siempre me dedicó tiempo y unas palabras de aliento. A ambos tutores de este trabajo, gracias de todo corazón.

A la Dra. Isabel Hernández García, profesora titular del Departamento de Fisiología de la Universidad de Murcia.

A la Dra. Miriam Pertegal Ruiz, Médico adjunto especialista en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca.

Al Dr. Enrique Martínez Barba, por su gran confianza y apoyo.

A mi madre, Isabel, por su constante insistencia en que finalizará este trabajo y su célebre frase: "Tranquila, mañana será otro día."

A mis compañeras y amigas Charo Martínez y Pilar Vicente Navarro. Ustedes saben que sin su colaboración este trabajo no existiría; gracias por ser tan bellos seres humanos y las mejores compañeras. Les debo una, y muy grande.

A Miriam Lencina Guardiola, por su colaboración con la inmunohistoquímica, por su interés y palabras de ánimo.

Gracias a todos mis compañeros del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, que se interesaron por el desarrollo de este proyecto y saben lo importante que era para mí.

A los Dres. Jesús Miguel de la Peña. Carmen Bernal Mañas y Amparo Torroba, por sus consejos y ayuda; soís unos grandes compañeros.

A los amigos y conocidos que se han interesado en el desarrollo de este trabajo, a Carlos Martínez, Beatriz Revilla, Alberto Baroja, Eva Mompean.

Al Dr. José Luis Guzmán Zamudio.

Por último, a mi querida compañera Inmaculada Vidal-Abarca Gutiérrez, mi compañera de despacho, que siempre me proporcionó palabras de ánimo y me toleró con infinita paciencia durante mis momentos de ansiedad y cansancio.

RESUMEN

Introducción

La preeclampsia es una enfermedad frecuente en el embarazo, que se incluye dentro del grupo denominado trastornos hipertensivos del embarazo y constituye hasta un 10% de las gestaciones de forma global. Se ha encontrado incremento de la apoptosis en placentas de mujeres con preeclampsia en comparación con mujeres con embarazos sin esta enfermedad. Existen escasas referencias en relación a la expresión inmunohistoquímica de la p53 y la p21 en el citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto de placentas de mujeres con preeclampsia por lo que el presente estudio contribuye al respecto, complementando con la aportación de la expresión de la apoptosis a nivel óptico evaluada con hematoxilina y eosina.

Objetivos

Los objetivos de este trabajo son describir los principales hallazgos histopatológicos en placentas con preeclampsia, así como describir la expresión inmunohistoquímica de los marcadores p53 y p21.

Material y métodos

En esta investigación estudiamos placentas procedentes de mujeres del área de salud I (Murcia/Oeste) que durante el embarazo presentaron preeclampsia. Se utilizó un grupo control de mujeres con gestaciones normales. El estudio se realizó en colaboración con el Área de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Murcia y la Unidad de Medicina Materno fetal del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, del cual uno de los facultativos especialistas obtuvo los datos clínicos y muestras biológicas. El estudio histopatológico y la inmunohistoquímica se realizó en el Servicio de Anatomía Patológica de este Hospital. El trabajo fue de tipo observacional, transversal y prospectivo. La muestra final incluyó 53 placentas, de éstas 15 correspondieron a placentas

de embarazo normal (grupo control), 22 a placentas con preeclampsia pretérmino y 16 a placentas con preeclampsia a término. El estudio microscópico se realizó con tinción de hematoxilina y eosina obteniéndose varias preparaciones histológicas de cada caso. La evaluación inmunohistoquímica se realizó siguiendo la escala de Fulop con marcadores para p53 y p21.

Resultados

Las placentas con preeclampsia mostraron signos de arteriopatía decidual (aterosis aguda, necrosis fibrinoide y placentación deficiente), sin evidencia de cambios de este tipo en las placentas del grupo control con embarazo normal. La arteriopatía decidual en placentas con preeclampsia fue alta (65,8%), encontrándose además mayor número de infartos (55,3%). Por otro lado se encontraron diferencias notables entre las placentas con preeclampsia del grupo pretérmino y a término, observando mayor número de casos de arteriopatía decidual, aterosis aguda, necrosis fibrinoide y placentación deficiente en el grupo de placentas con preeclampsia pretérmino que en el de término (72,7%, 54,6%, 45,4% y 77,3%). Las placentas con preeclampsia pretérmino mostraron mayor incremento de células de Hofbauer, cambios estromales y grado severo de presencia de nodos sincitiales (>50%) siendo estadísticamente significativo. Además se encontró que las placentas con preeclampsia a término mostraron más calcificaciones que el grupo de preeclampsia pretérmino, con diferencias estadísticamente significativas (93,8%). En relación a los estudios de inmunohistoquímica realizados, se encontró que tanto la intensidad, como el grado de expresión de la p53 y p21 en el citotrofoblasto, fue mayor en las placentas con preeclampsia que en el grupo control. La inmunohistoquímica de la p53 en el sincitiotrofoblasto no mostró diferencias, que si fueron detectadas en la tinción de p21 en el sincitiotrofoblasto tanto en intensidad como en el grado de expresión. En cuanto a los dos grupos de placentas de preeclampsia, no se encontraron diferencias significativas en intensidad y grado de expresión de p53. La intensidad de la p21 tanto en el citotrofoblasto como en el sincitiotrofoblasto fue mayor en placentas con preeclampsia pretérmino con tinción marcada en 77,3% y 50% respectivamente mostrando además mayor grado de expresión para este marcador.

Conclusiones

El grupo de placentas con preeclampsia mostró significativamente una mayor frecuencia de aterosclerosis aguda, necrosis fibrinoide, infartos y placentación deficiente, contrastando con el grupo de placentas sin enfermedad, en las que no se detectaron estos cambios. Las placentas con preeclampsia mostraron diferencias histopatológicas respecto a placentas no patológicas, identificándose una mayor frecuencia de arteriopatía decidual, lo que evidencia una mayor susceptibilidad al daño vascular estructural. La intensidad y el grado de expresión inmunohistoquímica de la p53 en el citotrofoblasto fue significativamente superior en las placentas con preeclampsia que en el grupo control. La tinción inmunohistoquímica de p21 fue mayor en el citotrofoblasto en las placentas con preeclampsia, tanto en la intensidad como en el grado de expresión, que en el grupo control. También en el sincitiotrofoblasto el grado de expresión fue significativamente superior en el grupo de preeclampsia, que en el grupo sin patología. Las placentas con preeclampsia pretérmino mostraron significativamente una mayor expresión inmunohistoquímica de la p21 en el citotrofoblasto, que en los casos de preeclampsia a término. Observamos una asociación significativa entre la presencia de altas resistencias uterinas y un mayor grado de expresión inmunohistoquímica de la p21 en el citotrofoblasto, hallazgo que podría constituir una interesante línea de investigación futura.

SUMMARY

Introduction

Preeclampsia is a common disease during pregnancy, and is included within the group of diseases known as hypertensive pregnancy disorders and accounts for 10% of overall gestations. Increased apoptosis has been found in the placentas of women with pre-eclampsia unlike women with pregnancies without this disease. There have been few references to p53 and p21 immunohistochemical expression in the cytotrofoblast and syncytiotrofoblast of the placentas of women with pre-eclampsia so that the present study intends to contribute to this area of research, complemented by an analysis of apoptosis at an optical level assessed using hematoxylin and eosin.

Objectives

The objectives of this study are to describe the main histopathological findings in placental samples of patients with preeclampsia, and to report on the detection of p53 and p21 proteins by immunohistochemistry.

Material and methods

In our present research we have studied placentas from women in our Healthcare Area I (Murcia/West) who presented with preeclampsia during pregnancy. A group of women with normal gestation was used as the control. The study was carried out in collaboration with the Physiology Department of the Faculty of Medicine at the University of Murcia and the Maternal-Fetal Medicine Unit at the Virgen de la Arrixaca Clinical Hospital, where one of the specialist physicians obtained the clinical data and biological samples. The histopathological study and immunohistochemistry were carried out in the Pathological Anatomy Service at the same hospital. It was a prospective, observational and cross-sectional study. The final sample included 53 placentas, of which 15 were placentas from normal pregnancies (control group), 22 placentas with pree-

clampsia from preterm pregnancies and 16 placentas with preeclampsia from term pregnancies. The microscopic analysis was carried out using hematoxylin and eosin staining obtaining several histological preparations from each case. The immunohistopathological assessment was carried out following Fulop's scale with markers for p53 and p21.

Results

The placentas with preeclampsia showed signs of decidual arteriopathy (acute atherosclerosis, fibrinoid necrosis and deficient placentation), while there was no evidence of these types of changes in the placentas of the control group (with a normal pregnancy). In placentas with preeclampsia, decidual arteriopathy was high (65.8%), and there were also a high number of heart attacks (55.3%). In addition there were notable differences between the placentas with preeclampsia in the preterm and the term pregnancy group, with more cases of decidual arteriopathy, acute atherosclerosis, fibrinoid necrosis and deficient placentation being observed in the group of placentas with preeclampsia in the preterm pregnancy group than in the term group (72.7%, 54.6%, 45.4% and 77.3%). The placentas with preeclampsia in the preterm group had a greater increase in Hofbauer cells, stromal changes and a severe level of syncytial nodes present (>50%), all being statistically significant. Additionally, it was found that the placentas with preeclampsia in term pregnancies had more calcifications than in the preterm pregnancy group with a statistically significant difference (93.8%). With regard to the immunohistochemical analysis carried out, it was found that both the intensity of p53 and p21 in the cytotrophoblast and the grade of expression of these markers, was greater in the placentas with preeclampsia than in the control group. Immunohistochemical evidence of p53 protein in the syncytiotrophoblast did not show any differences between the groups, detected using p21 staining in the syncytiotrophoblast to analyze the intensity and grade of expression. With regard to the two groups of placentas with preeclampsia, no significant differences were found in p53 protein intensity and expression. The intensity of p21 expression in both cyto- and syncytiotrophoblast was greater in the placentas with preeclampsia of preterm pregnancies using marker staining in 77.3% and 50% respectively, also revealing a higher level of expression for this marker.

Conclusions

The group of placentas with preeclampsia showed a significantly higher frequency of acute atherosclerosis, fibrinoid necrosis, heart attacks and deficient placentation, contrasting with the group of placentas with no disease, in which no changes were detected. The placentas with pre-eclampsia showed histopathological differences compared to non-diseased placentas, with a higher frequency of decidual atheriolopathy being identified, a finding which reveals greater susceptibility to structural vascular damage. The intensity and grade of p53 immunohistochemical expression in cytotrophoblast was significantly higher in the placentas with preeclampsia than in the control group. Immunohistochemical staining with p21 had a greater intensity and grade of expression in the cytotrophoblast in the placentas with preeclampsia, than in the control group. It was also found that in the syncytiotrophoblast the grade of expression was significantly greater in the preeclampsia group, than in the group without any disease. The placentas with preeclampsia from preterm pregnancies had a significantly higher immunohistochemical expression of p21 in the cytotrophoblast, than in cases of pre-eclampsia in term pregnancies. We have found a significant association between the presence of high uterine artery resistance and a higher immunohistochemical expression of p21 protein in the cytotrophoblast, a finding that could provide an interesting line of research in the future.

ÍNDICE

1. Introducción	1
1.1. Panorama actual de la preeclampsia.....	3
1.2. Definición de preeclampsia	4
1.3. Factores de riesgo de preeclampsia	5
1.4. Tipos de parto y preeclampsia.....	5
1.5. Fisiopatología de la preeclampsia	8
1.6. Marcadores bioquímicos en la preeclampsia.....	10
1.7. Estudio Doppler de las arterias uterinas	11
1.8. Correlación entre alteraciones en el índice de pulsatilidad de las arterias uterinas en la preeclampsia y datos histopatológicos.....	13
1.9. La placenta.....	14
1.9.1. Estructura de la placenta	14
1.9.2. Formación de la placenta	15
1.9.3. Implantación	16
1.9.4. Formación de las vellosidades placentarias.....	18
1.9.5. Corion frondoso y corion leve.....	19
1.9.6. Histología placentaria	20
1.9.7. Vascularización placentaria.....	27
1.9.8. Reactividad de los vasos sanguíneos feto-placentarios	27
1.9.9. Cambios histológicos secundarios durante el envejecimiento placentario.....	28
1.9.10. Fisiología placentaria	29
1.10. Histopatología placentaria	30
1.10.1. Aspecto macroscópico de la placenta de tercer trimestre (placenta normal)	32
1.11. Placenta y preeclampsia	32
1.11.1. Placentación deficiente en preeclampsia y crecimiento intrauterino restringido	33

1.12. Cambios histopatológicos en placentas con preeclampsia	34
1.12.1. Arteriopatía o vasculopatía decidual	35
1.12.1.1. Aterosis aguda	35
1.12.1.2. Placentación deficiente	35
1.12.1.3. Necrosis fibrinoide	36
1.12.2. Nodos sincitiales o cambio de Tenney-Parker	36
1.12.3. Hipermaduración placentaria.....	36
1.12.4. Trombo intervelloso (trombohematoma)	37
1.12.5. Infarto	37
1.12.6. Trombo en la circulación fetal.....	37
1.12.7. Corioamnionitis	37
1.12.8. Otros cambios histopatológicos.....	38
1.13. Correlación de cambios histopatológicos en casos de preeclampsia.....	39
1.14. Apoptosis placentaria.....	40
1.14.1. Placenta normal y apoptosis.....	40
1.14.2. Apoptosis en preeclampsia	41
1.14.3. Marcadores de apoptosis en placentas con preeclampsia	41
1.14.3.1. Mdm2.....	42
1.14.3.2. Bak y Bcl-2.....	42
1.14.3.3. Bax.....	42
1.14.3.4. p53	43
1.14.3.5. p21	44
2. Justificación y Objetivos	47
2.1. Justificación	49
2.2. Objetivos generales	50
2.3. Objetivos específicos.....	50

3. Material y Métodos	51
3.1. Población de referencia y de estudio	53
3.2. Ámbito de estudio.....	53
3.3. Selección de pacientes	54
3.3.1. Criterios de inclusión y exclusión.....	55
3.3.1.1. Criterios de inclusión	55
3.3.1.2. Criterios de exclusión.....	55
3.4. Diseño del estudio	56
3.5. Tamaño de la muestra y características principales	56
3.6. Estudio ecográfico Doppler de arterias uterinas.....	57
3.7. Estudio histopatológico de las placentas	57
4. Resultados	73
4.1. Descripción de la muestra	75
4.1.1. Características de la muestra.....	75
4.2. Variables clínicas en embarazo normal y preeclampsia	75
4.2.1. Variables maternas en embarazo normal y preeclampsia	75
4.2.2. Variables ecográficas en embarazo normal y preeclampsia	77
4.2.3. Variables del parto y recién nacido en embarazo normal y preeclampsia	78
4.3. Variables clínicas en preclampsia pretérmino y a término	80
4.3.1. Variables clínicas maternas en preclampsia pretérmino y a término	80
4.3.2. Variables ecográficas en preclampsia pretérmino y a término.....	81
4.3.3. Variables del parto y recién nacido en preclampsia pretérmino y a término.....	82
4.4. Variables histopatológicas en embarazo normal y con preeclampsia.....	84
4.5. Variables histopatológicas en placentas con preclampsia a término y pretérmino.....	105
4.6. Grado de expresión e intensidad inmunohistoquímica de p21 y p53 en placentas de embarazo normal y placentas con preeclampsia	116

4.6.1. Grado de expresión e intensidad inmunohistoquímica de p53 en placentas de embarazo normal y placentas con preeclampsia.....	117
4.6.2. Grado de expresión e intensidad inmunohistoquímica de p21 en placentas de embarazo normal y placentas con preeclampsia.....	123
4.7. Grado de expresión e intensidad inmunohistoquímica de p21 y p53 en placentas con preeclampsia.....	130
4.7.1. Grado de expresión e intensidad inmunohistoquímica de p53 en placentas con preeclampsia.....	130
4.7.2. Grado de expresión e intensidad inmunohistoquímica de p21 en placentas con preeclampsia.....	131
4.8. Crecimiento intrauterino restringido	133
4.8.1. Relación del crecimiento intrauterino restringido y la principales variables histopatológicas.....	133
4.9. Tensión arterial y variables histopatológicas.....	136
4.10. Análisis de las altas resistencias uterinas.....	138
4.10.1. Altas resistencias uterinas y cambios histopatológicos.....	140
4.10.2. Altas resistencias uterinas e inmunohistoquímica.....	140
5. Discusión.....	143
5.1. Diferencias histopatológicas entre placentas con preeclampsia y placentas del grupo control..	147
5.2. Diferencias histopatológicas entre el grupo de preeclampsia pretérmino y preeclampsia a término.....	156
5.3. Diferencias en apoptosis evaluada mediante hematoxilina y eosina.....	159
5.4. Expresión inmunohistoquímica de p53 y p21 en el citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto de las vellosidades placentarias.....	160
5.4.1. Expresión inmunohistoquímica de p53 en placentas de embarazo normal y preeclampsia.....	160

5.4.2. Expresión inmunohistoquímica de p21 en placentas de embarazo normal y preeclampsia	166
5.4.3. Expresión inmunohistoquímica de p53 en placentas con preeclampsia pretérmino y preeclampsia de término.....	168
5.4.4. Expresión inmunohistoquímica de p21 en placentas con preeclampsia pretérmino y preeclampsia a término.....	169
5.5. Relación de apoptosis evaluada mediante H&E y expresión inmunohistoquímica de p53 y p21 en placentas con preeclampsia.....	171
5.5.1. Relación de apoptosis evaluada mediante H&E y expresión inmunohistoquímica de p53 en placentas con preeclampsia	171
5.5.2. Relación de apoptosis evaluada mediante hematoxilina y eosina y expresión inmunohistoquímica de p21 en placentas con preeclampsia	172
5.6. Relación del crecimiento intrauterino restringido, tensión arterial y variables histopatológicas.....	173
5.7. Altas resistencias uterinas y variables histopatológicas e inmunohistoquímicas.....	173
5.7.1. Relación de las altas resistencias uterinas y arteriopatía decidual.....	173
5.7.2. Relación de las altas resistencias uterinas y la inmunohistoquímica de p53 y p21.....	174
6. Conclusiones.....	175
7. Bibliografía.....	179

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo propuesto para explicar la preeclampsia precoz y tardía.	7
Figura 2. Placentación deficiente corte histológico.....	9
Figura 3. Doppler arteria uterina	11
Figura 4. Índice de pulsatilidad de las arterias uterinas según edad gestacional.....	12
Figura 5. Propuesta de modelo de blastocisto e implantación.....	16
Figura 6. Disco bilaminar	17
Figura 7. Placenta segundo mes de la gestación	18
Figura 8. Vascularización placentaria.....	19
Figura 9. Aspecto macroscópico de una placenta a término tras fijación en formaldeído	20
Figura 10. Corte histológico de una vellosidad placentaria en el primer trimestre en gestación normal	24
Figura 11. Corte histológico de una vellosidad terciaria en el tercer trimestre en gestación normal	25
Figura 12. Corte histológico de una vellosidad terminal en el tercer trimestre en gestación normal.....	26
Figura 13. Corte histológico con calcificaciones en la decidua basal de una placenta a término en gestación normal.	29
Figura 14. Aspecto macroscópico de placenta a término (cara fetal)	32
Figura 15. Aspecto macroscópico de placenta a término (cara materna)	32
Figura 16. p53 y su relación con otros mediadores	44
Figura 17. Muestra de pacientes y sus características según grupos de estudio.....	56
Figura 18. Microtomo Thermo Scientific e HistoBath.....	59
Figura 19. Teñidor automático Dako Coverstainer	59
Figura 20. Carril de tinción obtenido del teñidor automático Dako Coverstainer.....	60
Figura 21. Laminilla con sección histológica teñida con hematoxilina y eosina.....	62
Figura 22. Sistema automatizado para inmunohistoquímica Envision Plus en teñidor automático Dako Omnis en el que se realizó la tinción de inmunohistoquímica para p53.....	63
Figura 23. Autostainer Link 48 de Dako en el que se realizó la inmunohistoquímica para p21.....	64

Figura 24. Laminilla con sección histológica con técnica de inmunohistoquímica.....	65
Figura 25. Escala empleada para valoración de la intensidad de la expresión de p53 y p21.....	66
Figura 26. Principales hallazgos histopatológicos en placentas con preeclampsia I.....	84
Figura 27. Principales hallazgos histopatológicos en placentas con preeclampsia II.....	85
Figura 28. Corte histológico con necrosis fibrinoide en placenta pretérmino. Tinción con hematoxilina y eosina y tinción con hematoxilina ácida fosfotúngstica.....	90
Figura 29. Aspecto macroscópico de un infarto central en una placenta del tercer trimestre con preeclampsia en fresco (sin fijación en folmaldehído).....	91
Figura 30. Corte histológico con infartos agudos en placenta a término con preeclampsia. Tinción con hematoxilina y eosina.....	91
Figura 31. Corte histológico con infarto agudo en placenta con preeclampsia pretérmino. Tinción con hematoxilina y eosina.....	92
Figura 32. Corte histológico con fibrina perivellositaria en placenta a término de embarazo normal en menos del 30% Tinción con hematoxilina y eosina.....	93
Figura 33. Corte histológico con fibrina perivellositaria en placenta a término. Tinción con hematoxilina y eosina.....	94
Figura 34. Corte histológico con fibrina perivellositaria en más del 50% en placenta a término de embarazo normal. Tinción con hematoxilina y eosina.....	94
Figura 35. Corte histológico con fibrina en superficie de decidua basal en placenta a término embarazo normal. Tinción con hematoxilina ácida fosfotúngstica.....	95
Figura 36. Corte histológico de vellosidades terciarias en placenta de embarazo normal. Tinción con hematoxilina y eosina. Tinción con hematoxilina ácida fosfotúngstica.....	95
Figura 37. Corte histológico con nodos sincitiales en placenta pretérmino con preeclampsia. Tinción con hematoxilina y eosina.....	96
Figura 38. Corte histológico de estroma vellositario con corangiosis en placenta pretérmino con preeclampsia. Tinción con hematoxilina y eosina.....	98
Figura 39. Corte histológico con edema de estroma vellositario y células de Hofbauer en placenta	

pretérmino con preeclampsia. Tinción con hematoxilina y eosina.....	99
Figura 40. Corte histológico con edema de estroma vellositario en placenta con preeclampsia a término Tinción con hematoxilina y eosina.	101
Figura 41. Corte histológico con edema decidual en placenta con preeclampsia a término. Tinción con hematoxilina y eosina.....	101
Figura 42. Corte histológico con calcificaciones estromales en placenta a término en embarazo normal. Tinción con hematoxilina y eosina.....	103
Figura 43. Corte histológico completo del disco placentario en placenta del tercer trimestre de un embarazo normal. Preparación de inmunohistoquímica con p53.....	120
Figura 44. Corte histológico con tinción de p53 débil en células del citotrofoblasto en placenta del tercer trimestre de embarazo normal.....	120
Figura 45. Corte histológico con tinción de p53 de intensidad moderada en las células del citotrofoblasto en placenta con preeclampsia a término.....	121
Figura 46. Corte histológico con tinción de intensidad marcada de p53 en las células del citotrofoblasto en placenta con preeclampsia pretérmino.	122
Figura 47. Corte histológico con tinción de intensidad muy débil de p53 en sincitiotrofoblasto en placenta a término de embarazo normal.....	123
Figura 48. Corte histológico con tinción de intensidad débil de p53 en nodos sincitiales en placenta con preeclampsia pretérmino.	124
Figura 49. Corte histológico con tinción de intensidad marcada de p53 de células de la decidua basal en placenta de embarazo normal.....	124
Figura 50. Corte histológico con tinción de intensidad moderada de p21 en el citotrofoblasto en placenta del grupo control con embarazo normal a término.....	127
Figura 51. Corte histológico con tinción de intensidad moderada de p21 en el sincitiotrofoblasto en placenta del grupo pretérmino con preeclampsia.....	129
Figura 52. Corte histológico con tinción de p21 de intensidad marcada y mayor al 50% de la sección en los nodos sincitiales en placenta de preeclampsia pretérmino.....	130

Figura 53. Corte histológico con tinción de p21 de intensidad marcada en los nodos sincitiales placentaria con preeclampsia pretérmino.....	131
---	-----

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tipos de preeclampsia según el momento de aparición durante el embarazo.....	6
Tabla 2. Indicaciones para el estudio de la placenta según Cox y Evans (2011).....	31
Tabla 3. Valores de referencia del índice de pulsatilidad (IP) de las arterias uterinas según edad gestacional.....	58
Tabla 4. Secuencia con teñidor automático Dako Coverstainer para tinción con hematoxilina y eosina.....	60
Tabla 5. Material fungible y reactivos utilizados para la tinción con hematoxilina y eosina.....	61
Tabla 6. Escala para valoración de grado de expresión de inmunohistoquímica.....	66
Tabla 7. Tipos de variables del estudio.....	66
Tabla 8. Tabla para valoración de índice de masa corporal	67
Tabla 9. Elementos histológicos placentarios examinados mediante p53 y p21.....	71
Tabla 10. Distribución de la muestra en placentas de embarazo normal y preeclampsia.....	75
Tabla 11. Distribución de la muestra en placentas con preeclampsia a término y preeclampsia pretérmino.....	75
Tabla 12. Variables clínicas maternas en embarazo normal y preeclampsia.....	77
Tabla 13. Variables ecográficas en embarazo normal y preeclampsia.....	78
Tabla 14. Variables del parto y recién nacido en embarazo normal y preeclampsia.....	79
Tabla 15. Variables clínicas maternas en preeclampsia pretérmino y preeclampsia a término.....	81
Tabla 16. Variables ecográficas en preeclampsia pretérmino y preeclampsia a término.....	82
Tabla 17. Variables del parto y recién nacido en preeclampsia pretérmino y preeclampsia a término...	83
Tabla 18. Resumen de los hallazgos histopatológicos en placentas de embarazo normal y preeclampsia.....	86
Tabla 19. Distribución de arteriopatía decidual en placentas de embarazo normal y preeclampsia...	86

Tabla 20 . Distribución de daño vascular en vasos de calibre medio en placentas de embarazo normal y preeclampsia.....	87
Tabla 21 . Distribución de la aterosclerosis aguda en placentas de embarazo normal y preeclampsia.....	87
Tabla 22 . Distribución del grado de afectación de la aterosclerosis aguda en placentas de embarazo normal y preeclampsia.....	88
Tabla 23 . Distribución de la necrosis fibrinoide en placentas de embarazo normal y preeclampsia.....	88
Tabla 24 . Distribución del grado de afectación de la necrosis fibrinoide en placentas de embarazo normal y preeclampsia.....	89
Tabla 25 . Distribución de otros tipos de daño vascular en placentas de embarazo normal y preeclampsia.....	90
Tabla 26 . Distribución del grado de afectación de otros tipos de daño vascular en placentas de embarazo normal y preeclampsia.....	90
Tabla 27 . Distribución del número de infartos en placentas de embarazo normal y preeclampsia.....	93
Tabla 28 . Grado de nodos sincitiales en placentas de embarazo normal y preeclampsia.....	97
Tabla 29 . Distribución de los cambios del estroma vellositario y grado de cambios estromales en placentas de embarazo normal y preeclampsia	100
Tabla 30 . Distribución del grado de afectación de cambios estromales en placentas de embarazo normal y preeclampsia.....	100
Tabla 31 . Distribución de las calcificaciones en placentas de embarazo normal y preeclampsia.....	102
Tabla 32 . Distribución de la localización de las calcificaciones en placentas de embarazo normal y preeclampsia.....	102
Tabla 33 . Distribución el grado de afectación por calcificaciones en placentas de embarazo normal y preeclampsia.....	102
Tabla 34 . Distribución de los brotes sincitiales en placentas de embarazo normal y preeclampsia....	103
Tabla 35 . Distribución del grado de afectación por brotes sincitiales en placentas de embarazo normal y preeclampsia.....	103
Tabla 36 . Resumen de los hallazgos histopatológicos en preeclampsia pretérmino y preeclamp-	

sia a término.....	106
Tabla 37 . Distribución de la arteriopatía en decidua basal en la preeclampsia.....	107
Tabla 38 . Distribución del daño vascular en las vellosidades placentarias en la preeclampsia.....	107
Tabla 39 . Distribución de la hipertrofia de capa muscular en las vellosidades placentarias en la preeclampsia.....	107
Tabla 40 . Distribución de la aterosclerosis aguda en la preeclampsia.....	108
Tabla 41 . Distribución del grado de afectación de necrosis fibrinoide en la preeclampsia.....	108
Tabla 42 . Distribución de los casos de otros tipos de daño vascular en la preeclampsia.....	109
Tabla 43 . Distribución del grado de daño vascular en la preeclampsia.....	109
Tabla 44 . Localización de la inflamación en grupos con preeclampsia.....	113
Tabla 45 . Resumen de la intensidad inmunohistoquímica de la p53 en placentas con embarazo normal y placentas con preeclampsia.....	118
Tabla 46 . Resumen del grado de expresión inmunohistoquímica de la p53 en placentas con embarazo normal y placentas con preeclampsia.....	119
Tabla 47 . Resumen de la intensidad inmunohistoquímica de la p21 en placentas con embarazo normal y placentas con preeclampsia.....	125
Tabla 48 . Resumen del grado de expresión inmunohistoquímica de la p21 en placentas con embarazo normal y placentas con preeclampsia.....	126
Tabla 49 . Distribución de los casos según las altas resistencias uterinas y la intensidad inmunohistoquímica de p53 y p21 en placentas con preeclampsia.....	140
Tabla 50 . Distribución de los casos según las altas resistencias uterinas y el grado de expresión inmunohistoquímica de p53 y p21 en placentas con preeclampsia.....	141
Tabla 51 . Principales cambios histopatológicos en embarazo normal y preeclampsia.....	150
Tabla 52 . Resumen de hallazgos histopatológicos en placentas con preeclampsia de estudios previos.	151
Tabla 53 . Principales cambios histopatológicos predominantes en grupo de preeclampsia.....	159

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Aterosclerosis aguda en embarazo normal y preeclampsia.....	88
Gráfico 2. Necrosis fibrinoide en embarazo normal y preeclampsia.....	89
Gráfico 3. Infartos en embarazo normal y preeclampsia.....	92
Gráfico 4. Grado de afectación de nodos sincitiales en embarazo normal y preeclampsia.....	97
Gráfico 5. Apoptosis evaluada con hematoxilina y eosina en embarazo normal y preeclampsia.....	104
Gráfico 6. Placentación deficiente en el grupo de preeclampsia.....	105
Gráfico 7. Aterosclerosis aguda en preeclampsia.....	107
Gráfico 8. Necrosis fibrinoide en preeclampsia.....	108
Gráfico 9. Grado de depósito de fibrina en preeclampsia.....	110
Gráfico 10. Grado de afectación por infartos en preeclampsia.....	110
Gráfico 11. Grado de afectación por nodos sincitiales en preeclampsia	111
Gráfico 12. Células de Hofbauer en preeclampsia.....	112
Gráfico 13. Número de focos inflamatorios en preeclampsia.....	113
Gráfico 14. Cambios estromales en preeclampsia.....	114
Gráfico 15. Grado de afectación por los cambios estromales en placentas con preeclampsia.....	114
Gráfico 16. Calcificaciones en preeclampsia.....	115
Gráfico 17. Apoptosis evaluada mediante tinción de hematoxilina y eosina (H&E) en preeclampsia.....	115
Gráfico 18. Brotes sincitiales en preeclampsia.....	116
Gráfico 19. Puentes sincitiales en preeclampsia.....	117
Gráfico 20. Placentación deficiente en grupo con preeclampsia.....	117
Gráfico 21. Intensidad de p53 en citotrofoblasto en embarazo normal y preeclampsia.....	119
Gráfico 22. Grado de expresión de p53 en el citotrofoblasto en embarazo normal y preeclampsia.....	121
Gráfico 23. Intensidad de p53 en el sincitiotrofoblasto en embarazo normal y preeclampsia.....	122
Gráfico 24. Grado de expresión de p53 en sincitiotrofoblasto en embarazo normal y preeclampsia.....	123
Gráfico 25. Intensidad de p21 en el citotrofoblasto en embarazo normal y preeclampsia.....	126
Gráfico 26. Grado de expresión de p21 en el citotrofoblasto en embarazo normal y preeclampsia.....	127

Gráfico 27. Intensidad de p21 en sincitiotrofoblasto en embarazo normal y preeclampsia.....	128
Gráfico 28. Grado de expresión de p21 en sincitiotrofoblasto en embarazo normal y preeclampsia....	129
Gráfico 29. Intensidad de p53 en citotrofoblasto en embarazo normal y preeclampsia.....	132
Gráfico 30. Grado de expresión de p53 en citotrofoblasto en embarazo normal y preeclampsia.....	132
Gráfico 31. Intensidad de p21 en citotrofoblasto en embarazo normal y preeclampsia.....	133
Gráfico 32. Grado de expresión de p21 en citotrofoblasto en embarazo normal y preeclampsia.....	134
Gráfico 33. Intensidad de p21 en sincitiotrofoblasto en embarazo normal y preeclampsia.....	134
Gráfico 34. Grado de expresión de p21 en sincitiotrofoblasto en embarazo normal y preeclampsia....	135
Gráfico 35. Crecimiento intrauterino restringido en preeclampsia.....	135
Gráfico 36. Distribución de los casos de crecimiento intrauterino restringido en función de la arterio- lopatía decidual.....	136
Gráfico 37. Distribución de los casos de crecimiento intrauterino retardado en función de la ate- rosis aguda.....	137
Gráfico 38. Grado de arteriopatía decidual y medias de tensión arterial sistólica y diastólica.....	138
Gráfico 39. Relación de aterosclerosis con cifras de tensión arterial sistólica pico y tensión arterial dias- tólica pico.....	139
Gráfico 40. Tensión arterial sistólica pico y diastólica pico y su relación con la necrosis fibrinoide.....	139
Gráfico 41. Principales hallazgos histopatológicos en placentas con preeclampsia y placentas del grupo control.....	149
Gráfico 42. Principales hallazgos histopatológicos en grupo control y comparación con grupo de placentas con preeclampsia.....	151
Gráfico 43. Arteriopatía decidual, aterosclerosis aguda, necrosis fibrinoide y placentación deficiente en grupo de placentas con preeclampsia.....	157
Gráfico 44. Intensidad inmunohistoquímica de p53 en preeclampsia.....	164
Gráfico 45. Porcentaje de expresión de p53 en el citotrofoblasto en grupo control y grupo con preeclampsia.....	165
Gráfico 46. Inmunohistoquímica de p53 en placentas con preeclampsia. Intensidad y expresión	

en las células de citotrofoblasto en el grupo de preeclampsia pretérmino y en el grupo de preeclampsia a término..... 169

Gráfico 47. Inmunohistoquímica de p21 en placentas con preeclampsia. Intensidad en las células de citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto en grupo de preeclampsia pretérmino y de preeclampsia a término..... 170

Gráfico 48. Apoptosis evaluada con hematoxilina y eosina e intensidad de p53..... 171

ABREVIATURAS

ACOG: American Collegue of Obstetrics and Gynecologist.

AP: Anatomía Patológica.

APAF-1: Factor activador de las proteasas apoptóticas.

AR: Altas resistencias de la arteria uterina.

ASK1: Cinasa reguladora de la señal de apoptosis.

CIR: Crecimiento intrauterino restringido.

CT: Citotrofoblasto.

EDP: Ecografía tipo Doppler.

EVT: Trofoblasto extravelloso.

GCM-1: Factor de transcripción específico del corion.

H&E: Hematoxilina y eosina.

HELLP: Hemólisis, enzimas hepáticas elevadas y plaquetopenia.

IAPS: Inhibidores de la apoptosis.

IHQ: Inmunohistoquímica.

IGF2: Receptores del factor de crecimiento endotelial vascular y factor de crecimiento insulínico 2.

IR: Índice de resistencia de vasos arteriales.

IP: Índice de pulsatilidad de vasos arteriales.

IAPs: Inhibidores de la apoptosis.

HCUVA: Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca Murcia.

mmHg: Milímetros de mercurio.

MMPs: Metaloproteinasas.

ST: Sinciotrofoblasto.

SAPK: Proteínas quinasas activadas por stress.

PCNA: Antígeno nuclear de proliferación celular.

PE: Preeclampsia.

PEG: Feto pequeño para la edad gestacional.

PI3K / AKT: Vía de señalización de la fosfatidilinositol-3-kinasa.

PT: Preeclampsia a término.

PPT: Preeclampsia pretérmino.

PUMA: Factor modulador de la apoptosis.

SEGO: Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia.

TAD: Tensión arterial diástolica.

TAS: Tensión arterial sistólica.

TGF- β : Factor de crecimiento transformante beta.

TIMPs: Inhibidores de las metaloproteinanas.

TTF-1: Factor -1 de transcripción nuclear tiroideo.

UMMF: Unidad de Medicina Materno Fetal.

UMF: Unidad de Medicina fetal.

VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular.

OVF: Onda de velocidad de flujo.

1. Introducción

CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA Y EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA
DE LOS MARCADORES p53 Y p21 EN EL TROFOBLASTO PLACENTARIO
EN PREECLAMPSIA

1.1. Panorama actual de la preeclampsia

La preeclampsia es una enfermedad común en el embarazo. Se incluye dentro del grupo denominado trastornos hipertensivos del embarazo y complica hasta un 10% de las gestaciones de forma global.

Aproximadamente puede afectar en torno al 6 - 7% de las mujeres nulíparas y entre el 3 - 6% de todas las gestaciones (Moldenhauer *et al.*, 2003; Sharp *et al.*, 2014). De Nelson *et al* (2014) observaron una prevalencia entre el 4 y el 8%. En España, Comino *et al* (1986) encontraron preeclampsia en el 1,1% en un en el que se evaluaron 70.033 casos. En algunos países desarrollados como Estados Unidos de América la incidencia se ha incrementado hasta un 25% durante las pasadas dos décadas (ACOG, 2013).

El incremento de las cifras de tensión arterial durante la gestación condiciona una afectación sistémica que produce diversas alteraciones a nivel cardíaco, renal, hepático y cerebral, por ello la preeclampsia es una causa muy importante de morbilidad y mortalidad materna y perinatal que se relaciona con aproximadamente 50.000-60.000 muertes por año a nivel mundial (Moldenhauer *et al.*, 2003; ACGO, 2013). Además de que puede representar entre el 10 al 15% de los fallecimientos maternos directos, la preeclampsia se considera un factor de riesgo para la enfermedad cardiovascular y metabólica que no desaparece con el fin de la gestación (Bellamy *et al.*, 2007). En relación con la morbilidad perinatal es una causa muy importante de parto pretérmino y su relación con el crecimiento intrauterino restringido es estrecha, determinando hasta un 10 al 25% del número de mortinatos.. Debido a su gran relevancia clínica se ha intentando obtener evidencia científica que permita desarrollar una guía terapéutica, sin embargo, estos esfuerzos aún no se han trasladado a la práctica clínica (ACOG, 2013).

A pesar de que se han realizado múltiples estudios de investigación sobre este tema, la etiología de la preeclampsia aún no se ha esclarecido completamente. Es evidente que constituye una entidad compleja en la que intervienen factores maternos y placentarios.

Estos últimos cobran especial relevancia ya que es muy evidente que la placenta desempeña un papel determinante en esta condición, la cual desaparece una vez finalizada la gestación al ser eli-

minada y separada del organismo materno. Por todas las razones expuestas es vital que se continúe realizando investigación en este campo.

1.2. Definición de preeclampsia

A pesar de que la preeclampsia constituye una de las patologías más frecuentes de la gestación, no existe una definición y clasificación universal. La Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia recomienda seguir la clasificación del Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos. Según este último organismo mencionado, la preeclampsia se define como el hallazgo después de la semana 20 de embarazo (salvo enfermedad trofoblástica o hidrops) de una hipertensión y/o proteinuria. Este último parámetro no se considera obligatorio para el diagnóstico ya que puede no estar presente y las guías recientes han eliminado a la proteinuria como dato indispensable. De acuerdo a la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia y el Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos, la hipertensión arterial se define como tensión arterial sistólica mayor o igual a 140 milímetros de mercurio (mmHg) y/o una tensión arterial diastólica mayor o igual a 90 mmHg, determinadas en dos ocasiones separadas por un mínimo de 6 horas. La proteinuria se define como la existencia de 300 mg o más de proteínas en orina de 24 horas o bien 30 mg/dl en una muestra aislada o la presencia de 1+ en tira reactiva en dos muestras separadas de orina.

La preeclampsia leve es la presencia de hipertensión arterial gestacional en ausencia de criterios de gravedad que a continuación se mencionan. Se considera que existe una preeclampsia grave cuando la enfermedad cumple alguna de las siguientes condiciones: tensión arterial sistólica de 160 mmHg o mayor, tensión arterial diastólica de 110 mmHg o mayor, proteinuria de 2 gr o más en 24 horas, creatinina sérica mayor de 1,1 mg/dl, trombocitopenia con menos de 100.000 plaquetas/ml, enzimas hepáticas elevadas, dolor epigástrico y alteraciones que indican afectación del sistema nervioso central como cefalea, fopsias, escotomas y amaurosis, así como edema pulmonar. La forma más severa es el síndrome que asocia hemólisis, enzimas hepáticas elevadas y trombopenia y que se asocia a preeclampsia grave (HELLP).

Otras definiciones importantes agrupadas dentro del grupo trastornos hipertensivos del embarazo son:

- Hipertensión arterial crónica: Es la hipertensión arterial que está presente antes de la gestación o se presenta antes de la semana 20.

- Eclampsia: Se considera a la aparición de convulsiones antes, durante o hasta 4 semanas después del parto en paciente con preeclampsia, aunque puede ocurrir en mujeres sin hipertensión.

1.3. Factores de riesgo de preeclampsia

Dada la gran importancia de esta enfermedad y su relación con la supervivencia materno-fetal se recomienda calcular el nivel de riesgo para preeclampsia en la primera visita obstétrica. Varios factores como las características demográficas y componentes de la historia obstétrica se asocian con un mayor riesgo para el desarrollo de preeclampsia. En términos generales se considera que son de alto riesgo las que muestran las siguientes características: gestantes de más de 40 años, nuliparidad, índice de masa corporal de más de 30 kg/m² o mayor, historia familiar de preeclampsia y enfermedad vascular preexistente (Poon *et al.*, 2010; Wright *et al.*, 2012).

1.4. Tipos de parto y preeclampsia

En la preeclampsia una de las principales complicaciones es el parto pretérmino electivo para disminuir las complicaciones maternas, condición que determina morbi-mortalidad en el producto de la concepción. El parto pretérmino es aquel que se presenta después de la semana 22 y antes de haber completado la semana 37 (259 días de gestación). El parto a término es el producido entre la semana 37 y 41 del embarazo. Según el momento de aparición durante el embarazo la preeclampsia se puede clasificar en precoz o temprana, intermedia o tardía. La preeclampsia precoz es aquella que requiere el parto antes de las semana 34 y la preeclampsia tardía se define como aquella en la que el parto se produce pasada la semana 37 de gestación. La preeclampsia intermedia es aquella que requiere la finalización del embarazo entre las 34 y 37 semanas. Esta última clasificación ha cobrado valor en los últimos años ya que se ha argumentado que podrían tratarse de dos entidades clínicas diferentes con mecanismos fisiopatológicos distintos que tendrían en común la presencia de signos y síntomas propios de la enfermedad,

pero aún existe controversia sobre este tema. Existen varias diferencias clínicas entre la preeclampsia precoz y la preeclampsia tardía, una de las más importantes es la mayor asociación del crecimiento intrauterino restringido en la primera (Von Dadelszen *et al.*, 2003).

En los últimos años se ha argumentado que podrían tratarse de dos entidades clínicas diferentes con mecanismos fisiopatológicos distintos que tendrían en común la presencia de signos y síntomas propios de la enfermedad, pero aún existe controversia sobre este tema (Tabla 1 y figura 1).

	PE precoz: <34 semanas	PE tardía: >34 semanas
Frecuencia	1/200 a 1/300 embarazos (10-20% de casos de preeclampsia)	1/20-1/50 embarazos (80-90% de casos de preeclampsia)
Patogenia	Placentación deficiente	Disfunción vasculo endotelial previa por enfermedad materna
Características fetales	Suele asociar crecimiento intrauterino restringido	No suele asociar crecimiento intrauterino restringido. Fetos grandes
Características maternas	Baja tasa nuliparidad Índice de masa corporal normal o aumentado	Alta tasa nuliparidad Índice de masa corporal aumentado
Arterias uterinas	IR aumentadas Persistencia Notch	IR normales o ligeramente aumentadas Ausencia Notch
Pronóstico	Alta mortalidad fetal y materna	Baja mortalidad fetal y materna
Histopatología	Asocia aterosclerosis aguda	Asocia aterosclerosis aguda

Tabla 1. Tipos de preeclampsia según el momento de aparición durante el embarazo. IR: Resistencias uterinas. PE: preeclampsia. Tomado de Herraiz *et al.*, 2015.

Vistos los datos mencionados anteriormente se puede intuir que la preeclampsia es una entidad clínica heterogénea. Es llamativa la mayor presencia de crecimiento intrauterino restringido en preeclampsia precoz.

El crecimiento intrauterino restringido se define como la incapacidad del feto para alcanzar su potencial esperado de crecimiento cuando el peso fetal estimado es inferior al percentil 10 para la edad gestacional, siendo esta la definición más aceptada (Martínez, C & López, F). Algunos autores utilizan criterios distintos como percentil 3 o percentil 5 (Figueras, 2008). En los fetos con crecimiento intrauterino

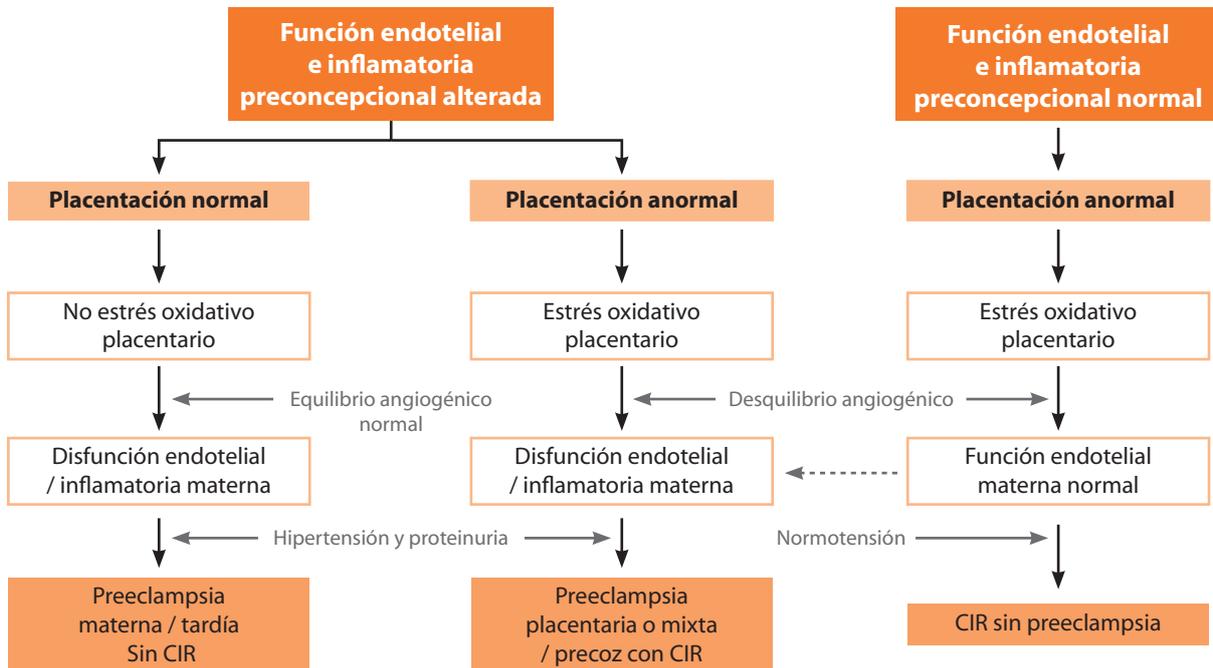


Figura 1. Mecanismo propuesto para explicar la preeclampsia precoz y tardía. Tomado de Herraiz *et al.*, 2015.

restringido puede existir presencia de alguna manifestación de compromiso fetal, como estudio Doppler anómalo (alteración del flujo cerebro-umbilical o de las arterias uterinas), o la presencia de peso inferior al percentil 10 sin alteraciones hemodinámicas. Se pueden distinguir dos tipos de crecimiento intrauterino restringido: precoz o menor a las 32 semanas de gestación y tardío o mayor a las 32 semanas de gestación.

Los fetos con crecimiento intrauterino restringido pueden asociar preeclampsia. La importancia del peso fetal se basa en la relación inversamente proporcional entre el percentil del peso fetal/neonatal y los resultados perinatales adversos que se suelen asociar a crecimiento intrauterino restringido y que empeoran cuando el peso fetal está por debajo del percentil 3.

A diferencia del crecimiento intrauterino restringido, el diagnóstico de feto pequeño para la edad gestacional es aquel feto con peso fetal estimado por debajo del percentil 10 y sin identificación de alteración hemodinámica materno-fetal. Este tipo de fetos en general, con algunas excepciones, no asocian un pronóstico tan malo con el del crecimiento intrauterino restringido y son seguidos mediante ecografía pudiéndose realizar la inducción del parto a las 40 semanas, es decir, a término. Entre el 50 al 70% de los fetos pequeños para la edad gestacional lo son debido a la talla materna o a su etnia, es decir a su carga genética (Martínez, C & López, F).

1.5. Fisiopatología de la preeclampsia

Aunque se han realizado grandes avances en los conocimientos sobre la fisiopatología de la preeclampsia, en la actualidad su fisiopatogenia todavía no está completamente esclarecida. Es evidente que la existencia de la placenta es un requisito necesario para que se desencadene la enfermedad, no ocurriendo así con el feto y el útero. Esto determina que tras el alumbramiento o desprendimiento fisiológico de la placenta esta enfermedad remite. La dificultad para el estudio de esta compleja condición quizá resida en que la preeclampsia es producto de múltiples factores diferentes que afectan los vasos sanguíneos placentarios y que en mujeres con factores de susceptibilidad endotelial tienen como resultado una respuesta inflamatoria sistémica exagerada y como consecuencia la enfermedad. (Stegers *et al.*, 2010).

Uno de los aspectos que actualmente tienen más solidez y han centrado la atención como objeto de estudio en la preeclampsia, son las alteraciones en la placentación (Pijnenborg, 1980). La placentación es un proceso complejo y vital para la correcta evolución de la gestación que supone la construcción de una conexión entre el embrión y la madre. Los defectos en la placentación están relacionados con el desarrollo de preeclampsia y crecimiento intrauterino restringido. Este consiste en un mecanismo fisiológico en el que el trofoblasto extraveloso invade el tejido endometrial materno transformado (decidua) y tiene como fin general el establecimiento de la estructura placentaria como tal y el desarrollo de la red vascular de bajas resistencias que permita conectar la circulación materna y la fetal. La perfusión materna se realiza a través de las arterias espirales, entre 30 y 60 vasos sanguíneos, conformados por una pared de músculo liso y un revestimiento endotelial. Durante la placentación que ocurre en la primera mitad del embarazo estas pequeñas arteriolas son invadidas por células de trofoblasto extraveloso que completan este proceso de invasión alrededor de las semanas 20 a 22 (Burton, 2009). Las arteriolas están inmersas en un estroma endometrial que ha experimentado cambios debido al efecto hormonal y que ahora se denomina decidua.

El resultado final es una "remodelación" vascular que convierte a estas estructuras en vasos de baja resistencia y elevada capacitancia debido a que la pared del vaso sanguíneo pierde de forma

fiológica el componente de músculo liso y por lo tanto se vuelven más “débiles” e incrementan su capacidad de distensión cuando ocurre el flujo sanguíneo en ellos (Staff, 2010). Todos estos cambios están destinados a conseguir vasos más anchos y de baja resistencia, que permitan un aporte continuo de grandes volúmenes de sangre al espacio intervelloso, es decir, que tienen mayor capacidad de dilatación lo cual aumenta notablemente el flujo placentario necesario para la nutrición fetal.

En la preeclampsia este fenómeno fisiológico de desaparición de la capa muscular en los vasos de la decidua materna no ocurre de la misma manera que en los casos con embarazo normal. Aunque la placentación es adecuada en la mayor parte de la placenta con preeclampsia, la distribución de este fenómeno es diferente, pues solo se presenta en las zonas periféricas de la decidua y además se produce de forma incompleta, de manera que las arterias espirales continúan conservando el componente de músculo liso en la pared convirtiendo estos vasos sanguíneos en estructuras de pared gruesa y de calibre estrecho, dificultando el flujo sanguíneo y determinando hipoperfusión intermitente, lo que causa stress oxidativo placentario (Figura 2).

Como resultado el sincitiotrofoblasto libera a la circulación materna una serie de factores antiangiogénicos y proinflamatorios con el fin de provocar cambios circulatorios que aumenten la

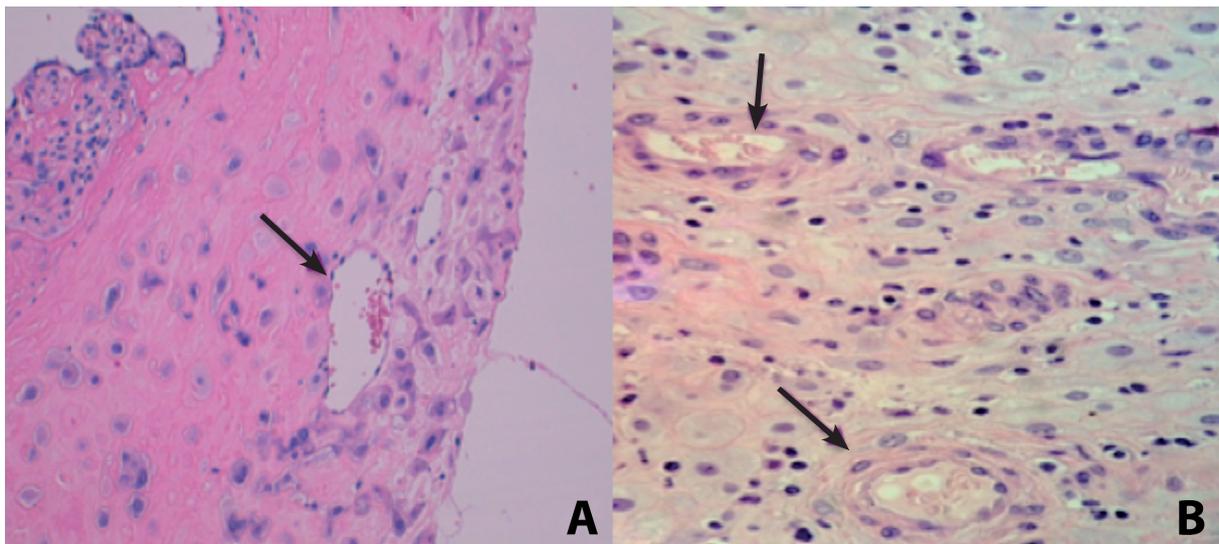


Figura 2. A: Corte histológico que muestra un vaso sanguíneo localizado en decidua basal con ausencia fisiológica de componente muscular en su pared (flecha). Placenta de grupo control embarazo a término. Tinción con hematoxilina y eosina a 20x. B: Corte histológico que muestra varios vasos sanguíneos en la decidua basal en la que se observa persistencia anormal de componente muscular de las arteriolas (flechas). Los vasos tienen claramente una pared más gruesa que en imagen mostrada previamente. Placenta con preeclampsia pretérmino. Tinción con hematoxilina y eosina a 20x.

perfusión placentaria, pero que pueden determinar alteraciones del binomio placenta-madre. Estos factores antiangiogénicos son sFlt-1 y la sEng. Además se produce una disminución de factores proangiogénicos como el PIGF y el CEGF. Este desequilibrio aumenta la inflamación vascular materna y una disfunción endotelial generalizada que desencadena los signos típicos de la preeclampsia como hipertensión arterial y proteinuria. Dentro de otras causas de fisiopatogenia de la preeclampsia también se ha propuesto que el trofoblasto expresa proteínas paternas e interacciona directamente con el sistema inmune materno que por algún motivo no lo rechaza. La placenta es un tejido extraño para la madre y como tal origina en ella una respuesta inmunológica e inflamatoria. En el embarazo normal esta respuesta es de baja intensidad, pero en la preeclampsia se produce de forma excesiva ocasionando una descompensación en el binomio placenta-madre (Redman, 1999).

En las etapas iniciales debe existir una tolerancia inmunológica al feto alógeno. Si esta tolerancia se pierde las células natural killer, un subtipo de linfocitos T, destruyen parcialmente las células del citotrofoblasto extraveloso por falta de reconocimiento del complejo mayor de histocompatibilidad HLA -G. Se considera que todos estos fenómenos inmunológicos condicionan los mecanismos de implantación placentaria (Goldman-Wohl *et al.*, 2009).

1.6. Marcadores bioquímicos en la preeclampsia

De la misma manera que en otras enfermedades se han desarrollado marcadores para su detección precoz, en la preeclampsia se han propuesto algunos que parece que están implicados en la placentación o en la cascada de acontecimientos que se produce por una placentación inadecuada y conducen al desarrollo de síntomas. Algunos de estos marcadores incluyen: Endoglina soluble, inhibina-A, activina-A, pentraxina-3 y P-selectina que se encuentran aumentados (Baumann *et al.*, 2007; Poon *et al.*, 2009). La proteína plasmática asociada al embarazo (PAPP-A), el factor de crecimiento placentario (PLGF) y PP13 (proteína placentaria) se encuentran disminuidas en suero. Los marcadores que han demostrado ser útiles en el screening de aneuploidias, y que se utilizan para valorar el riesgo de preeclampsia en el primer trimestre son la proteína plasmática asociada al embarazo PAPP-A y el PLGF (Baumann *et al.*, 2007; Poon *et al.*, 2009).

1.7. Estudio Doppler de las arterias uterinas

La ecografía es un método diagnóstico de gran utilidad en Medicina. En la actualidad su uso en Obstetricia se ha convertido en una herramienta indispensable. Gracias a esta técnica no invasiva es posible estudiar la hemodinámica materna, placentaria y fetal en situaciones de normalidad y de patología subyacente. El Doppler pulsado es el tipo de Doppler utilizado para evaluar la hemodinamia fetal. El estudio Doppler de las arterias uterinas se puede realizar por vía vaginal o abdominal. Para el estudio Doppler de las arterias uterinas por vía vaginal se coloca la sonda en el fondo de saco y se identifica el cérvix uterino. Se evalúa la arteria uterina en la unión del cérvix-cuerpo uterino a nivel del orificio cervical interno. Para el estudio por vía abdominal se coloca la sonda ecográfica a 2-3 centímetros paralela a la espina ilíaca y se localiza la arteria uterina a nivel del cruce artificial con los vasos uterinos. Para identificar este punto se emplea el Doppler color. Se mide la onda de velocidad de flujo de la arteria uterina a 1-2 centímetros a este cruce con ángulo de insonación $<45^\circ$. La representación gráfica de la señal Doppler recibida se observa en la figura 3.

Para la valoración semi-cuantitativa de la onda de velocidad de flujo se han propuesto diversos índices, que relacionan la máxima frecuencia sistólica con la telediastólica. Los índices de los vasos

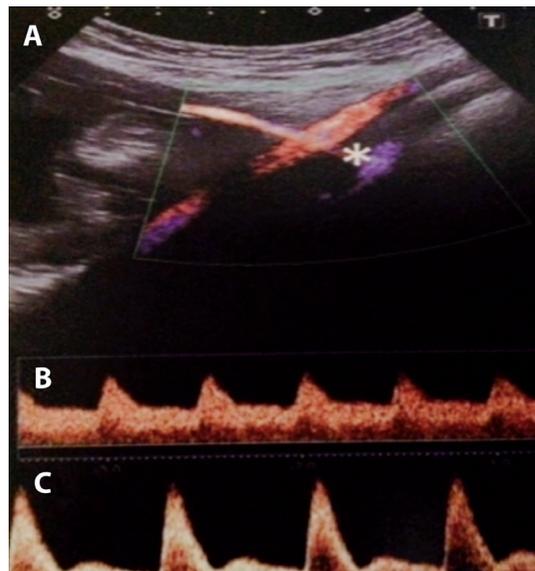


Figura 3. A. Identificación de la arteria uterina mediante Doppler color. B. Doppler espectral normal de la arteria uterina. C. Doppler patológico de la arteria uterina con aumento de las resistencias, índice de pulsatilidad elevado y presencia de Notch. Tomado de Barrera, J (2014).

arteriales son: Relación sístole/ diastóle, índice de resistencia o Pourcelot, índice de pulsatilidad, velocidad máxima sistólica, velocidad mínima diastólica y máxima de las velocidades media. Se puede realizar una valoración cualitativa de la onda de velocidad de flujo mediante observación de la presencia o la ausencia de escotadura protodiastólica o Nocht, que está presente en el 55% de los casos a las 11-14 semanas, en el 15-20% a las 20 semanas y en el 5 -9% a las 24-26 semanas. La valoración cuantitativa de la onda de velocidad de flujo puede realizarse mediante el índice de pulsatilidad y el índice de resistencia. Se considera patológica la presencia de un índice de pulsatilidad medio (sumatorio de índice de pulsatilidad de la arteria uterina derecha y de la arteria uterina izquierda) mayor del percentil 95 o la presencia de Notch bilateral. Algunos grupos utilizan únicamente el índice de pulsatilidad de menor resistencia. Se puede concluir que el índice de pulsatilidad de las arterias uterinas varía a lo largo de la gestación, siendo alto en las primeras semanas de gestación y disminuyendo gradualmente conforme la gestación avanza, por lo que para su valoración es indispensable hacer la correlación con la edad gestacional (Figura 4).

La onda de velocidad de flujo de la arteria uterina es una onda de baja pulsatilidad y elevada frecuencia telediastólica. Su morfología varía durante el ciclo menstrual y a lo largo de la gestación. Durante el primer trimestre se observa un flujo telediastólico evidente, pudiendo observarse

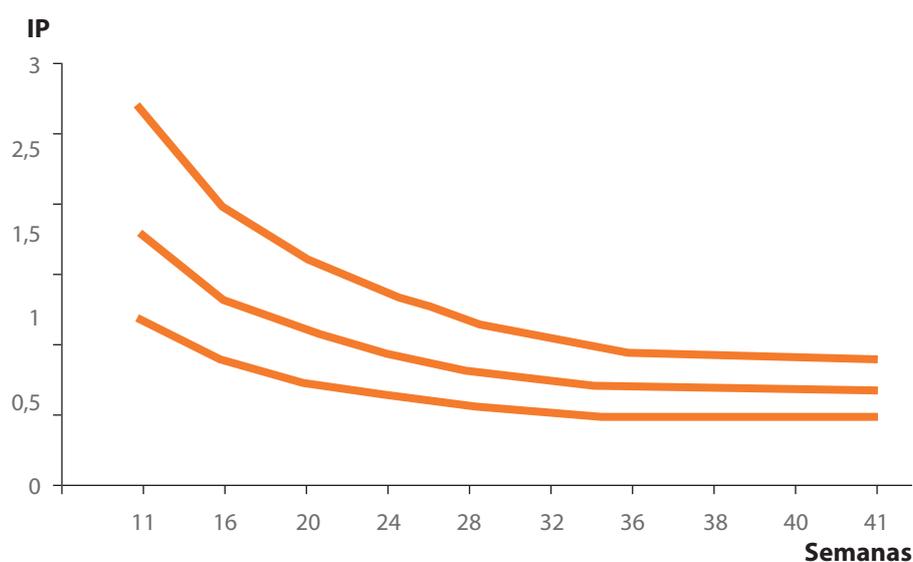


Figura 4. Índice de pulsatilidad de las arterias uterinas según edad gestacional. Tomado de Figueras *et al.*, 2008.

Notch de manera fisiológica. En el segundo trimestre las resistencias vasculares disminuyen persistiendo el Notch hasta la semana 18-20 y desaparece en condiciones normales entre las 20-24 semanas. El índice de pulsatilidad de la onda de velocidad de flujo disminuye a lo largo de la gestación. Las alteraciones ecográficas en el Doppler en gestaciones con preeclampsia se manifiestan como una alteración en el índice de pulsatilidad de las arterias uterinas, que muestra elevación como signo de alta resistencia de los vasos sanguíneos placentarios al paso de la sangre materna. El estudio Doppler de las arterias uterinas es útil para la predicción de la preeclampsia, cuando es utilizado junto a otros parámetros como los marcadores bioquímicos y las características clínicas maternas y epidemiológicas. Esta estrategia predictiva presenta muy buenos resultados para la detección de la preeclampsia precoz y subóptimos para la preeclampsia de instauración más allá de las 34 semanas. (Poon *et al.*, 2013). Es posible emplear el estudio Doppler para predecir qué mujeres presentan más riesgo de desarrollar preeclampsia severa en los casos de pacientes con preeclampsia sin criterios de severidad, pero con un Doppler uterino patológico, con lo puede planearse un seguimiento más estrecho.

1.8. Correlación entre alteraciones en el índice de pulsatilidad de las arterias uterinas en la preeclampsia y datos histopatológicos

Diversos autores coinciden en que los hallazgos histopatológicos difieren notablemente en la preeclampsia precoz o de inicio temprano y la preeclampsia tardía (Ogge *et al.*, 2011; Nelson *et al.*, 2014). Estos autores también sugieren de forma indirecta que podría existir correlación en la alteración Doppler de las arterias uterinas y la placentación deficiente observada mediante histopatología. Existen muy pocos estudios en referencia a la correlación entre histopatología de la placenta con preeclampsia y los hallazgos ecográficos del índice de pulsatilidad de las arterias uterinas. Mazdali *et al* (2003) encontraron una relación estadísticamente significativa entre el crecimiento intrauterino restringido y alteración en el flujo de las arterias uterinas, con el hallazgo de una invasión trofoblástica inadecuada, aterosclerosis aguda y trombosis en las placentas de embarazos con crecimiento intrauterino restringido, entre otras características. Este grupo considera que una

alteración importante en el flujo de las arterias uterinas podría reflejar una mala perfusión en la decidua o lecho placentario. Para algunos autores como Viscardi *et al* (2001), esta correlación cobra relevancia debido a que plantean que la presencia de dos o más cambios histopatológicos se asocian con una mayor morbilidad y mortalidad perinatal. Paradójicamente Aardemma *et al* (2001) no encontró ninguna relación entre los cambios histopatológicos y el Doppler de las arterias uterinas, constituyendo uno de los escasos estudios referentes a estas dos características. Este último grupo plantea que las mujeres con preeclampsia pueden mostrar ausencia de alteraciones en el flujo de las arterias uterinas, ausencia de cambios histopatológicos y evolucionar clínicamente mal. Esta ausencia de cambios pone de manifiesto lo diverso y complejo del síndrome y hace necesaria la investigación de otras características en estas placentas, algunas probablemente sin los hallazgos histopatológicos habituales.

1.9. La placenta

1.9.1. Estructura de la placenta

La placenta es una de las estructuras biológicas más sorprendentes. Muestra una gran complejidad arquitectural y fisiológica que aún hoy en día a pesar del enorme conocimiento que se tiene sobre ella, permanecen grandes incógnitas en cuanto a su desarrollo y funcionamiento.

A pesar de que es un órgano de vida corta y con temporalidad limitada al embarazo, muestra una fisiología muy compleja. Su principal misión es la nutrición del producto de la concepción. Su enorme importancia para un embarazo óptimo, se pone también de manifiesto en condiciones de enfermedad, ya que una mala función de ésta determina graves consecuencias para el producto de la concepción, como por ejemplo, un retraso en el crecimiento intrauterino o incluso la muerte. Además de la importancia biológica inherente de nutrir y proteger a un ser humano en crecimiento y desarrollo, muestra un significado de gran impacto cultural en ciertos grupos humanos que no debe minimizarse. A través de los años se han realizado, y se continúan haciendo múltiples estudios referentes a la placenta, con lo que muchos aspectos biológicos de ésta permanecen aún ocultos y en el futuro el conocimiento sobre esta materia se ampliará.

Es muy interesante conocer que no todas las patologías que afectan al complejo madre-feto-placenta tienen un impacto directo en la placenta, ya que existen enfermedades que tienen como blanco a ésta última (procesos infecciosos por ejemplo) con grave alteración de la función, y otras que a pesar de ser de tipo sistémico no siempre determinan un cambio disfuncional severo en ella. De esta manera queda demostrada la gran capacidad de adaptación de esta estructura, pues reacciona de modo variable ante la patología sistémica y regional.

Una de las patologías sistémicas de mayor repercusión es la preeclampsia, una enfermedad que afecta hasta el 10% de las mujeres embarazadas, constituye un problema de salud pública grave, y es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad materna en países en desarrollo (Mao *et al.*, 2013).

1.9.2. Formación de la placenta

La comprensión de la histología placentaria es bastante más sencilla si se entiende el complicado proceso de formación del embrión humano, por lo que el estudio de la histología placentaria es prácticamente difícil de concebir sin comprender conceptos básicos de la embriología humana. La formación de esta fascinante estructura es la característica que define al grupo de mamíferos placentados o euterios, es decir, que los seres humanos, compartimos la forma de reproducción con muchas especies animales. Dentro de esta categoría existen diversos tipos de estructuras placentarias, todas ellas cumplen la función de proveer nutrientes al embrión y al feto. Según la clasificación morfológica de Strahl en 1905, que se establece en función del modo de distribución de las vellosidades del corion, la placenta de los primates es discoidal, es decir, con vellosidades agrupadas en un área circular u ovalada y propia de primates. Según la clasificación histológica de Grosser de 1927 que se establece en función del grado de destrucción de los componentes maternos y fetales de la placenta, la placenta humana es de tipo hemocorial. En ésta se destruye incluso el endotelio vascular materno. El epitelio del corion se baña directamente en la sangre materna. La placenta humana es pues, de acuerdo a estas clasificaciones, de tipo hemocorial y discoidal.

1.9.3. Implantación

No es la intención de este trabajo describir de forma detallada el proceso de formación de la placenta, por lo que se mencionan fundamentalmente los principales acontecimientos que ocurren para su formación y desarrollo. Una serie de mecanismos complejos culminan con la fecundación del óvulo y la formación de una mórula y posteriormente un blastocisto que a través de un asombroso remodelamiento progresivo y transformación dará lugar a una de las estructuras biológicas más increíbles; la placenta. Estos sucesos ocurren de forma muy precoz en la primera semana de gestación. El cigoto producto inicial de la fecundación, muestra proliferación celular convirtiéndose en un grupo compacto de células ó mórula, y aproximadamente al cuarto día, este cúmulo de células muestra los primeros signos de transformación y evolución. Se observa la aparición de una cavidad en el interior de la masa de células, de la cual la porción interna (masa celular interna o embrioblasto) dará origen al embrión y la masa celular externa al trofoblasto, denominándose ahora como blastocisto. Después de la formación del blastocisto, la pared externa de éste o trofoblasto (masa celular externa) se adhiere a la superficie endometrial que muestra cambios secretores y que se encuentra en condiciones óptimas y especialmente preparado para la implantación, fenómeno que ocurre aproximadamente en el día 6 (Sadler, 2012) (Figura 5).

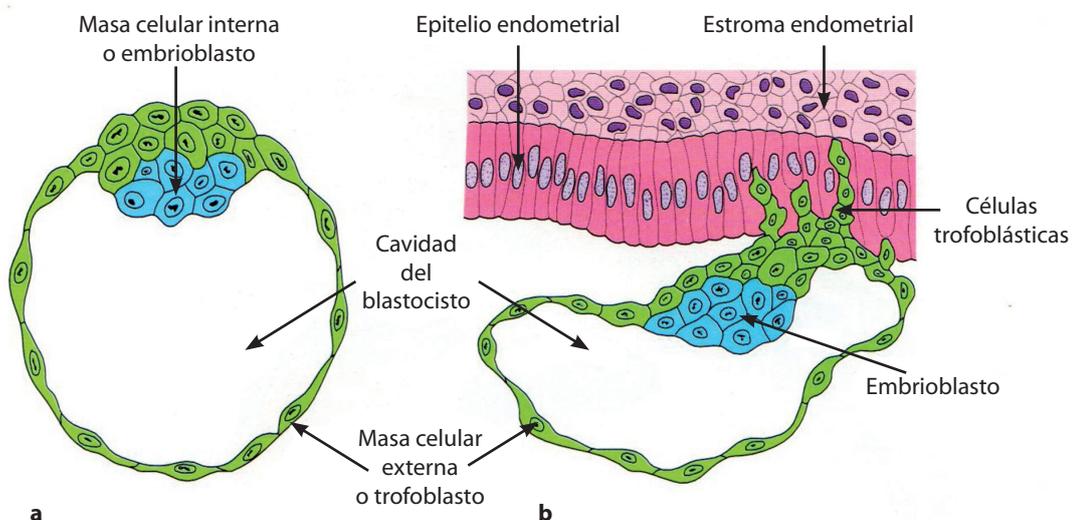


Figura 5. Propuesta de modelo de blastocisto e implantación. Tomado de Geneser, 2000.

Diversas moléculas como L-selectina en las células del trofoblasto y receptores de carbohidratos en el epitelio endometrial median la interacción inicial, con posterior intervención de las integrinas expresadas por el trofoblasto y además moléculas como laminina y fibronectina que favorecen adhesión y migración respectivamente, de manera que la implantación resulta de una compleja interacción entre blastocisto y endometrio (Sadler, 2012). La masa celular externa o trofoblasto hacia el día 8 se diferencia en:

- Una capa interna de células mononucleadas denominada citotrofoblasto.
- Una capa con células multinucleadas sin límites citoplásmicos bien definidos o sincitiotrofoblasto.

La masa celular interna o embrioblasto se diferencia en dos capas denominadas disco bilaminar que se dispone como una estructura plana diferenciándose el hipoblasto y el epiblasto (Figura 6).

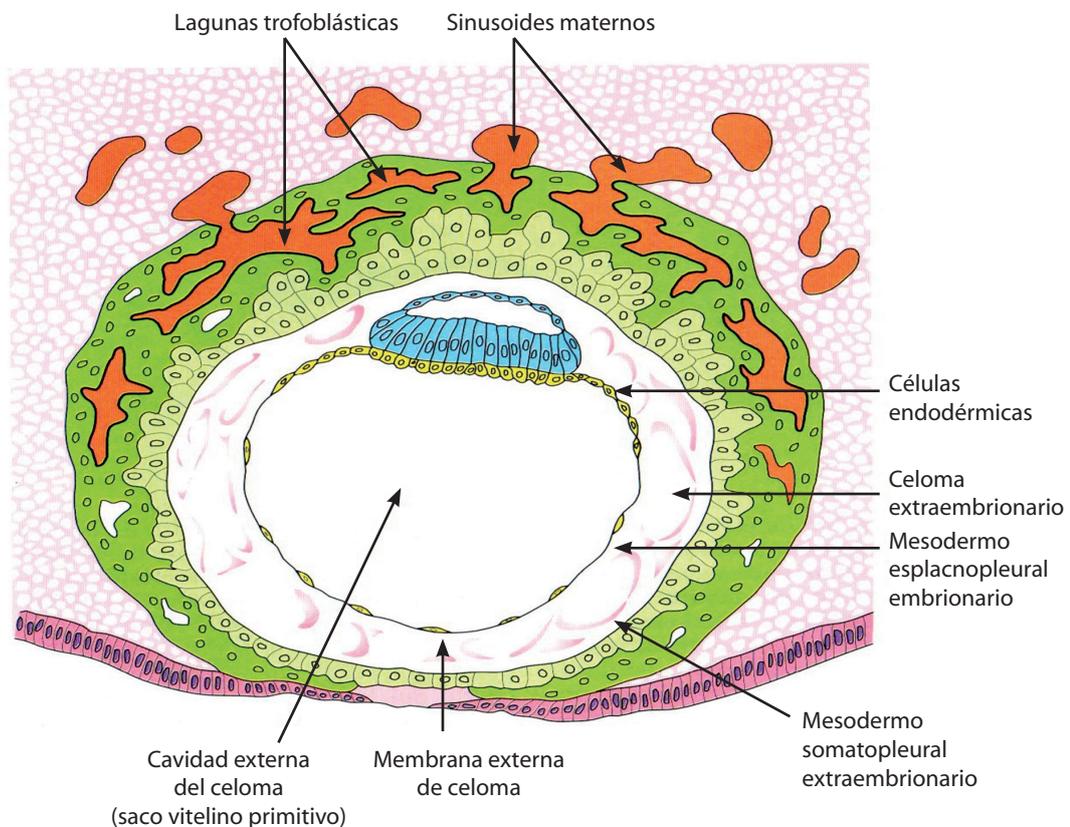


Figura 6. Disco bilaminar. Esta estructura es de dimensiones tan pequeñas que es difícil visualizarla en material remitido para estudio histopatológico. En este momento la masa celular externa que se ha diferenciado en citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto erosiona e invade el endometrio dando origen al inicio de la placenta. El citotrofoblasto se divide y migra dentro del sincitiotrofoblasto, fusionándose y perdiendo ambas sus respectivas membranas basales. Tomado de Geneser, 2000.

1.9.4. Formación de las vellosidades placentarias

La formación de las vellosidades placentarias se inicia tras la invasión inicial del endometrio secretor materno. Este proceso es complejo e incluye la interacción del mesodermo de la placa coriónica, la decidua materna o basal y los componentes del trofoblasto extraembrionario. Las arterias maternas o arterias espirales sufren erosión de la pared por el sincitiotrofoblasto permitiendo que pierdan su componente muscular y de esta forma disminuye la resistencia al flujo, lo que hace más accesible la llegada de sangre a los espacios intervillosos de la placenta que se encuentran constituidos por múltiples compartimentos llenos de sangre. Este fenómeno es la denominada placentación mencionada anteriormente. En estos espacios o lagos de sangre están inmersas las vellosidades placentarias que conforme avanza la gestación se ramifican proporcionando mayor superficie para la absorción de nutrientes (Sadler, 2012; Mills, 2012) (Figura 7 y 8).

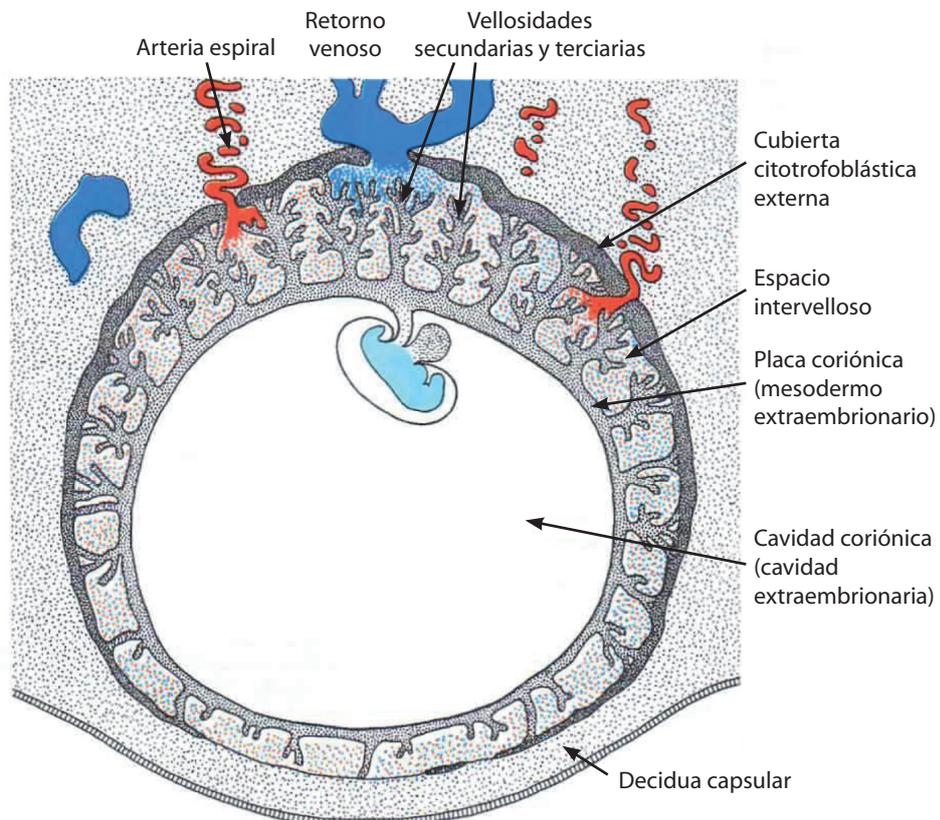


Figura 7. Dibujo que muestra una placenta en el segundo mes de la gestación. Las arterias espirales del endometrio materno (color rojo) proporcionan la sangre a los espacios intervillosos en los que están inmersas las vellosidades placentarias. Las vellosidades placentarias tienen la función de facilitar la absorción de los nutrientes, que acceden al feto por el cordón umbilical. Tomado de Geneser, 2000.

Durante el proceso de invasión el trofoblasto extraveloso que es el componente invasivo del trofoblasto, expresa proteínas específicas. Éstas incluyen antígenos de tipo integrina relacionados con la matriz extracelular, metaloproteinasas (MMPs), proteínas de transducción de señal como el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), receptores del factor de crecimiento endotelial vascular y factor de crecimiento insulínico 2 (IGF2). Para invadir la decidua y el miometrio, el trofoblasto extraveloso debe degradar la matriz extracelular empleando algunos miembros de la familia de las MMPs. La actividad de éstas está regulada por los inhibidores de las metaloproteinasas (TIMPs). Tanto el TIMP-1, como el TIMP-2 se han detectado en la decidua basal. Por lo tanto la decidua modula la invasión del trofoblasto mediante secreción de factores locales como citocinas, e inhibidores de las proteasas (Burton y Jauniaux, 2004).

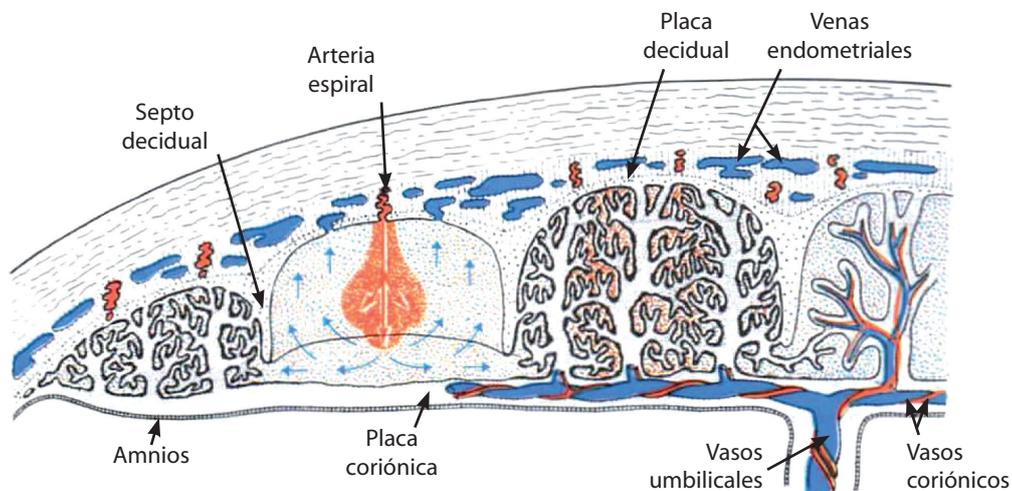


Figura 8. Dibujo que muestra la vascularización placentaria. Tomado de Geneser, 2000.

1.9.5. Corion frondoso y corion leve

En la fase inicial del desarrollo placentario, las vellosidades cubren toda la superficie del corion (mesodermo extraembrionario), pero a medida que avanza el tiempo, las vellosidades del polo embrionario se ramifican y crecen formando el corion frondoso, mientras las del polo contrario al em-

brión involucionan y forman una capa fina de tejido conectivo o corion leve que formará al fusionarse con el amnios las membranas libres (Sadler, 2012). La placenta es una estructura extremadamente dinámica, pues sufre una transformación y remodelamiento progresivo a través de los diferentes trimestres del embarazo. De forma paralela al crecimiento del feto, la placenta crece, por lo que durante todo el embarazo ocupa hasta el 30% de la superficie de la cavidad uterina.

1.9.6. Histología placentaria

La placenta normal de un embarazo a término pesa entre 400 y 600 gramos, este peso puede mostrar variaciones dependiendo del peso del recién nacido. La fijación en formol puede determinar alteraciones en el peso incrementándolo en un 10%. Mide aproximadamente 18 x 16 x 2.3 cm. Habitualmente muestran de 16 a 20 cotiledones. Tiene una superficie fetal lisa en la que se inserta el cordón umbilical y otra materna o porción unida al endometrio materno (Mills, 2012) (Figura 9).

Las principales estructuras histológicas de la placenta a término son las siguientes:

- Cordón umbilical.
- Membranas libres.

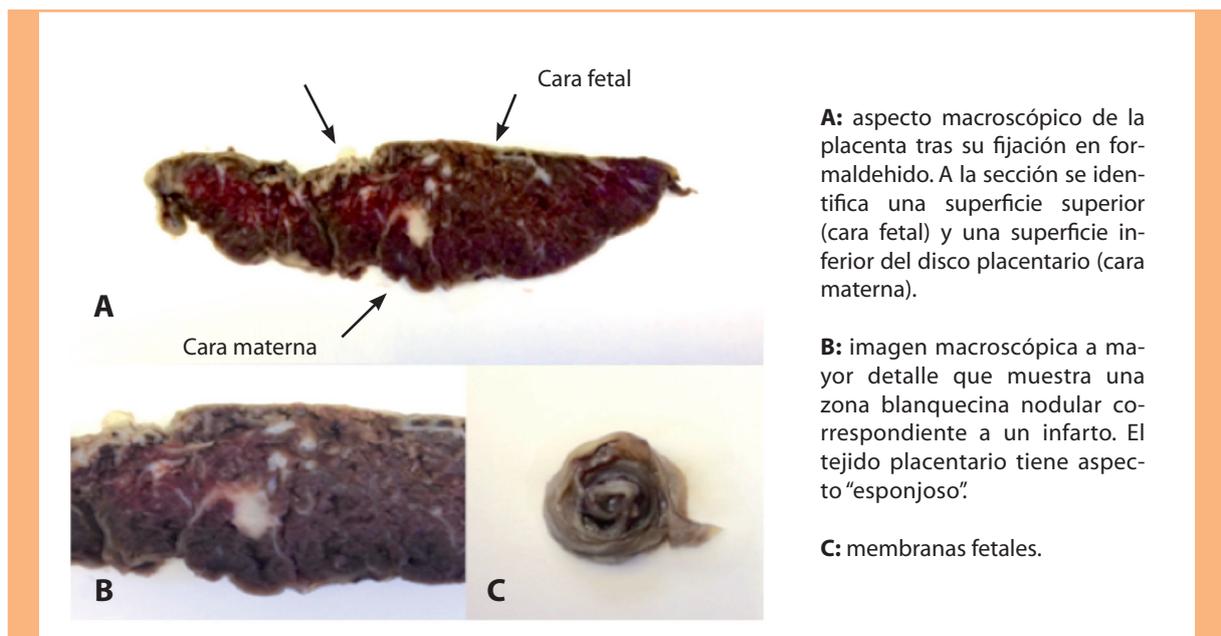


Figura 9. Sección transversal de la placenta tras fijación en formaldehído con las principales estructuras histológicas que la componen.

- Decidua basal o placa basal.
- Placa coriónica.
- Vellosidades placentarias.

A continuación se describe cada uno de estos componentes:

Cordón umbilical: Constituido en superficie por una capa de epitelio amniótico por debajo de la cual se observa la gelatina de Wharton, compuesta por mucopolisacáridos (ácido hialurónico y condroitinsulfato). Los mastocitos pueden ser prominentes y es raro encontrar algún macrófago. La vasculatura está formada por dos arterias y una vena. Las arterias poseen una pared muscular muy gruesa sin presencia de lámina elástica interna. La vena muestra en su composición lámina elástica interna. Ambas arterias cerca de la base de inserción del cordón se anastomosan simulando en ocasiones un vaso arterial único. Posteriormente los vasos del cordón se ramifican sobre la superficie placentaria fetal o placa coriónica disminuyendo de calibre a medida que alcanzan la periferia del disco placentario.

Membranas Fetales o Membranas libres: Consisten en el amnios y el corion leve. El amnios es la porción interna de la cavidad embrionaria. Hacia la semana 12 se fusiona con el tejido conectivo coriónico subyacente o corion leve, con lo cual sólo se visualiza como una capa de células cúbicas sobre una membrana basal que está fusionada con tejido conectivo del corion leve. El amnios y su tejido conectivo subyacente de corion leve constituyen las membranas. Éstas carecen de vasculatura propia y recibe nutrientes del líquido amniótico. Las ramificaciones de los vasos sanguíneos (arterias y venas) que discurren sobre la placa coriónica no pueden distinguirse en base a criterios histológicos debido a la complejidad de éstas. Arquitecturalmente se puede determinar ya que las arterias discurren sobre las venas en la superficie fetal. Esto es de importancia cuando se presentan anastomosis vasculares como en algunas gestaciones gemelares.

Decidua: Es la superficie endometrial modificada histológicamente por la gestación. La transformación de la mucosa endometrial incluye un cambio epiteliode de los fibroblastos estromales asociados a cambios en la matriz extracelular, angiogénesis e infiltración por otros tipos celulares de inmunidad innata como las células natural killer, células dendríticas y macrófagos. Este cambio

inicialmente se limita a las células del estroma endometrial subyacentes a la superficie del epitelio endometrial y posteriormente constituye el entorno en el que se lleva a cabo la placentación, indispensable para el establecimiento de una red vascular uteroplacentaria con flujo de baja resistencia. Conforme la gestación avanza toda la superficie endometrial experimenta esta transformación, por lo que se describen diferentes tipos de decidua según la localización. La decidua capsular (parte que cubre al embrión) y la decidua parietal (resto de endometrio modificado de la cavidad uterina) desaparecen al expandirse la cavidad amniótica y fusionarse con el amnios en la semana 12, como se mencionó anteriormente. La decidua basal o placa basal se encuentra por debajo del corion frondoso (vellosidades) y tiene grandes cantidades de lípidos y glucógeno. La matriz intercelular además tiene colágeno tipo IV, laminina, fibronectina y heparán sulfato. Se han identificado menores cantidades de colágeno I, III y V. Se ha demostrado que la decidua basal produce prolactina y lactógeno placentario (Mills, 2012). Histológicamente son células poligonales, de aspecto "epitelioide", con amplio citoplasma eosinófilo. Los núcleos son redondos. Además de estas células están presentes fibroblastos y linfocitos y se menciona la existencia de un tipo de célula llamado "granular" que produce relaxina. Hacia el cuarto o quinto mes, la decidua forma varios tabiques placentarios que se extienden desde la placa de la decidua hasta la placa coriónica sin llegar a ella. Los tabiques placentarios dividen la placenta en lobulillos o "cotiledones" (de 10 a 20). Hacia la mitad del embarazo se alcanza el grosor definitivo (Geneser, 2000). Los vasos de la decidua basal sufren una remodelación fisiológica que consiste en pérdida de la pared de músculo liso aproximadamente a partir de la semana 20 de la gestación, condición que más allá de este período se considera anormal o patológica (Khong, 1991; Moldenhauer *et al.*, 2003). Este proceso ocurre debido a una compleja interacción entre el trofoblasto y las células endoteliales de los vasos sanguíneos de la madre (arterias espirales). El resultado final de la pérdida de parte de la pared del vaso es una circulación rápida que muestra baja resistencia al flujo de sangre (Cartwright *et al.*, 2002). Es muy importante conocer este hecho ya que de una placentación deficiente puede derivarse patología de gran repercusión.

Vellosidades placentarias: El corion frondoso contiene las vellosidades placentarias. La vellosidad placentaria terminal es la unidad funcional de la placenta y la estructura que permite el adecuado

intercambio de gases y nutrientes que llegarán al feto para su óptimo desarrollo. Las vellosidades se desarrollan a partir del trofoblasto extraembrionario que a su vez se diferencia en dos tipos: citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto. Estos dos tipos celulares especializados y el trofoblasto intermedio son de origen epitelial y por lo tanto expresan citoqueratinas a nivel inmunohistoquímico a diferencia de la decidua. Tanto el citotrofoblasto como el sincitiotrofoblasto invaden y remodelan el endometrio (porción posterior o basal de la placenta) teniendo como resultado final la vellosidad. En este proceso también existe interacción con el tejido conectivo de la placa coriónica hasta “conectar” los vasos de las vellosidades con los del feto y establecer la circulación placentaria final. El sincitiotrofoblasto es la capa epitelial externa de las vellosidades, muestra núcleos picnóticos, usualmente múltiples e hiper cromáticos. Posee un borde en cepillo con microvellosidades que desempeñan actividad pinocítica. El hallazgo de vacuolas dentro de su citoplasma indican su capacidad absorptiva y secretora. Tienen abundante retículo endoplásmico, mitocondrias, gotas de lípidos y aparato de Golgi. En este componente se detecta hormona gonadotropina coriónica y lactógeno placentario.

El citotrofoblasto es la capa epitelial interna de la vellosidad y está constituido por células cúbicas, de núcleos de cromatina fina que muestran ocasionalmente figuras de mitosis. Ultraestructuralmente tiene menos organelos que el sincitiotrofoblasto, destacando sus numerosas y grandes mitocondrias. No se ha demostrado hormona gonadotropina coriónica en este componente. Como parte del desarrollo vellositario se produce una disminución del tamaño vellositario conforme avanza la gestación, para lograr una mayor eficiencia de la estructura y facilitar el intercambio entre ambas circulaciones. Esto ocurre por disminución del estroma, observándose además que el citotrofoblasto disminuye notablemente hasta formar una capa discontinua. A nivel histológico es difícil identificar las dos capas de trofoblasto y por tanto hacer distinción entre ambas. El sincitiotrofoblasto que recubre a la capa discontinua de citotrofoblasto se adelgaza. El resultado final es un íntimo contacto entre los capilares vellositarios y trofoblasto facilitando el transporte de nutrientes ya que la “membrana” que deben atravesar es muy fina.

Existen tres tipos de vellosidades a lo largo del desarrollo placentario:

- Las **vellosidades primarias** o vellosidades iniciales se encuentran al inicio de la tercera semana

y consisten en una zona central de citotrofoblasto recubierta por una capa externa de sincitiotrofoblasto. Este tipo de vellosidad es difícil de observar en la práctica ya que únicamente se observa en etapas muy incipientes de la gestación.

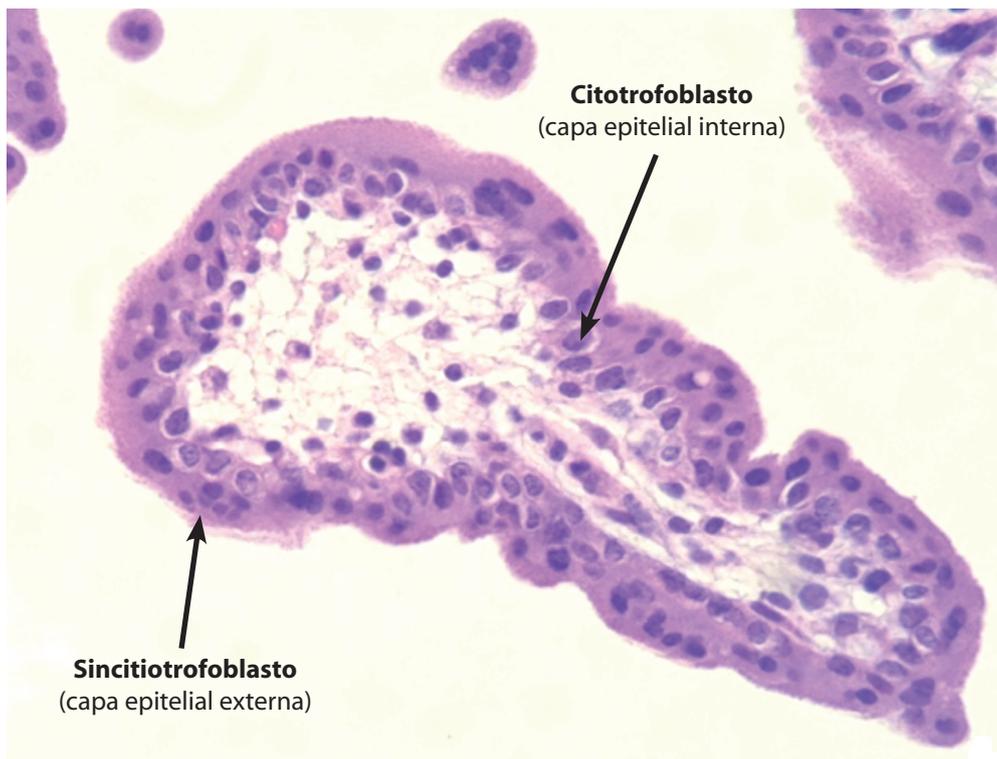


Figura 10. Corte histológico muestra una vellosidad secundaria con presencia de una capa interna de citotrofoblasto (flecha larga) y otra externa de sincitiotrofoblasto (flecha corta) con prominente estroma en la porción central. Sin embargo, aún carece de vasos sanguíneos. Placenta de 5 semanas producto de un aborto espontáneo. Tinción de hematoxilina y eosina a 40x.

- Las **vellosidades secundarias** se forman cuando el mesodermo de la placa coriónica penetra en las vellosidades primarias de forma más abundante. No muestran vasos sanguíneos de tipo capilar porque aún no se ha establecido la circulación materno- fetal (Figura 10).

Antes de la sexta semana de gestación no se observan aún vasos sanguíneos en el corion vellositario (vellosidades secundarias). A partir de la octava semana se observan ya algunos precursores nucleados de eritrocitos. Después de la semana 12 sólo el 10% de los eritrocitos son nucleados y a partir de la semana 20 su presencia se considera anormal (Mills, 2012).

- Las **vellosidades terciarias** o definitivas están constituidas hacia el final de la tercera semana

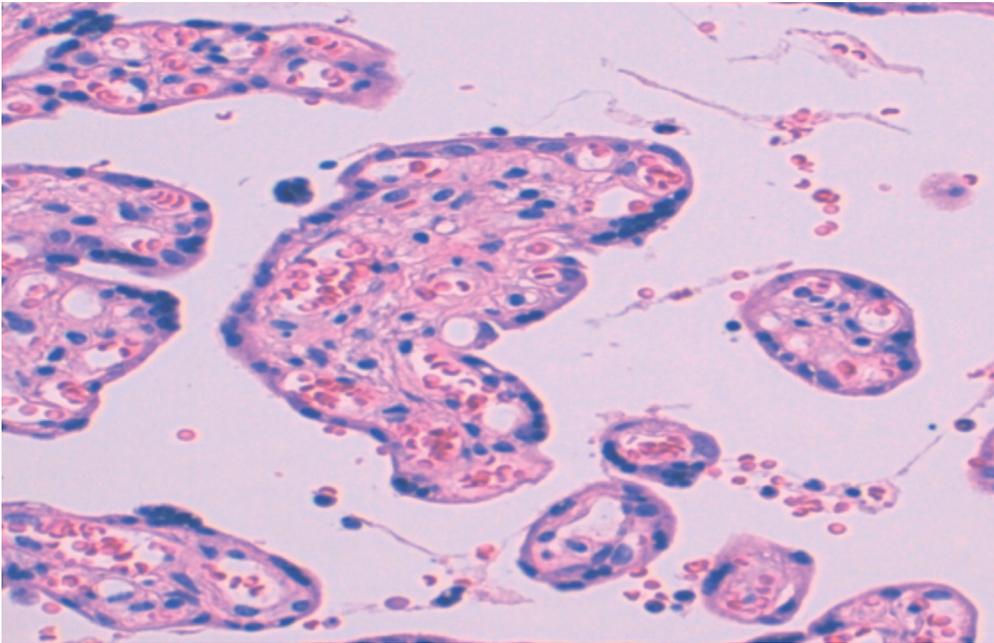


Figura 11. Corte histológico que muestra una vellosidad terciaria con notable adelgazamiento del sincitiotrofoblasto y citotrofoblasto y numerosos vasos sanguíneos con menor cantidad de estroma. Esta es la vellosidad característica de la placenta de embarazo a término que permite una adecuada circulación materno-fetal. Placenta normal a término. Tinción con hematoxilina y eosina a 20x.

(día 21 aproximadamente) y consisten en un estroma en el cual se observan ya vasos sanguíneos, estableciéndose así conexión adecuada entre los vasos vellositarios y los vasos fetales en desarrollo de la placa coriónica (superficie fetal), y por tanto, el inicio de la circulación fetal. (Figura 11).

A lo largo del desarrollo vellositario el citotrofoblasto forma una capa continua y se puede decir que “dona” o transmite células al sincitiotrofoblasto suprayacente que forma una estructura continuo. En la gestación más avanzada las células de citotrofoblasto forman una capa discontinua en las vellosidades. En el embarazo a término el sincitiotrofoblasto, mucho más abundante y que recubre la superficie externa de la vellosidad, tiene una superficie de 12 a 14 m². El recambio de sincitiotrofoblasto es controlado por el grado de fusión del citotrofoblasto y la apoptosis.

La sincitina, una proteína derivada del retrovirus endógeno humano HERV-W, aumenta su expresión en el ST, y es responsable de la fusión de CT y la transformación del trofoblasto en sincitiotrofoblasto. Esta proteína se expresa en menor medida en gestaciones de mujeres con preeclampsia (Lee *et al.*, 2001; Knerr *et al.*, 2002).

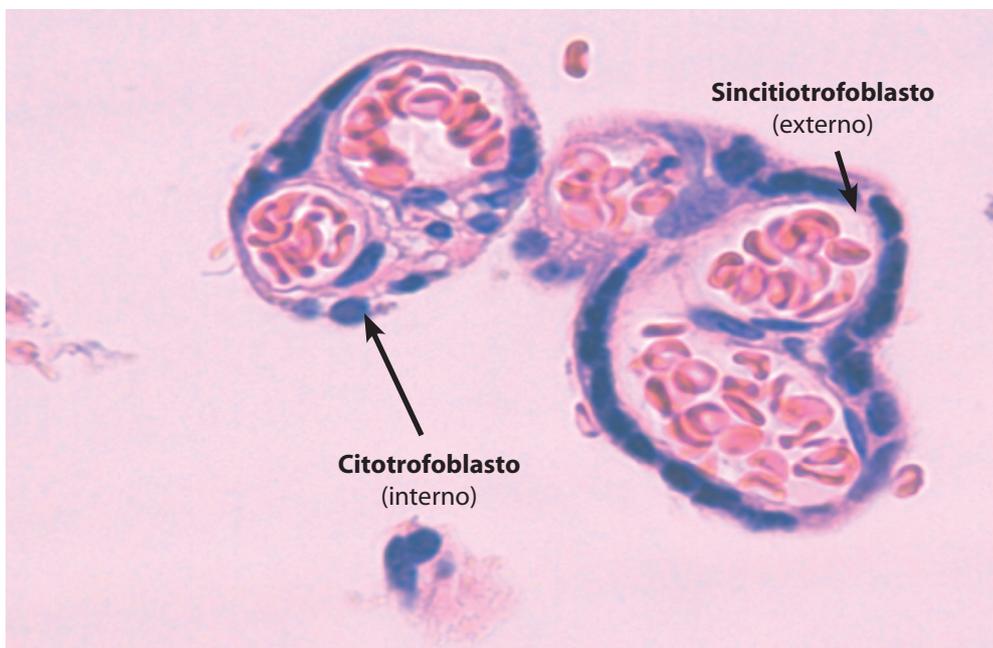


Figura 12. Corte histológico de vellosidad terminal, producto de las múltiples ramificaciones de las vellosidades terciarias, y en ella se observa la máxima expresión del adelgazamiento del citotrofoblasto con mínimos núcleos de citotrofoblasto recubiertos por sincitiotrofoblasto, que determina una gran proximidad de la membrana basal del vaso capilar con escasísimo estroma en el corion o centro de la vellosidad, todos estos factores permiten un intercambio óptimo de nutrientes. Placenta de embarazo normal a término. Tinción con hematoxilina y eosina a 40x.

La **vellosidad terminal** contiene de 3 a 5 capilares que se ramifican y forman en ocasiones espacios ligeramente dilatados de tipo sinusoidal, lo cual quizá reduce la resistencia al flujo y determina un flujo sanguíneo más lento para maximizar el tiempo de intercambio de nutrientes (Figura 12).

En la porción basal de la placenta suele verse además del citotrofoblasto interno y el sincitiotrofoblasto externo, una tercera población celular en la vellosidad que se distribuye en un polo (polarización).

La placenta es una estructura dinámica con lo que muestra cada vez más ramificaciones de las vellosidades ya establecidas. De forma general las vellosidades del primer trimestre muestran más estroma que las del último trimestre y son de mayor tamaño. Conforme la placenta se desarrolla y madura las vellosidades disminuyen de tamaño y sus ramificaciones son mayores. Como prueba de esta capacidad de adaptación se producen cambios según el entorno materno y ambiental, por ejemplo, en los embarazos que se producen a grandes altitudes donde existe hipoxia relativa o aquellos complicados por anemia materna, se observa proliferación de las células del citotrofoblasto e incremento de la formación del sincitiotrofoblasto en un intento por incrementar la cantidad de superficie placentaria. Las

vellosidades del tercer trimestre de la gestación son pequeñas, surgen de las vellosidades de tamaño intermedio como una especie de “ramificación” de éstas, muestran escaso tejido conectivo central con numerosos vasos sanguíneos que tienden a disponerse en la periferia. Poseen una capa muy fina de citotrofoblasto apenas perceptible o evidente con predominio del revestimiento de sincitiotrofoblasto. El estroma de las vellosidades contiene fibroblastos primitivos (el 50% de éstos).

1.9.7. Vascularización placentaria

La proporción de la placenta ocupada por los vasos placentarios se incrementa a través de la gestación para facilitar el transporte de nutrientes. Los tres estadios del desarrollo vascular consisten en un estadio inicial de vasculogénesis seguido por una ramificación y posteriormente un proceso sin ramificación de vasos. Las dos arterias umbilicales y la vena se dividen en una red de vasos secundarios y finalmente en vasos terciarios antes de introducirse en las vellosidades principales de mayor tamaño. Estos vasos se ramifican entonces desde dos hasta 5 veces para formar las ramas de las vellosidades intermedias y en ramas pequeñas que terminan en una vellosidad terminal, que es más pequeña y constituye como se había mencionado la unidad funcional del intercambio de nutrientes (Charnock-Jones y Burton, 2000).

1.9.8. Reactividad de los vasos sanguíneos feto-placentarios

En ausencia de inervación del sistema nervioso autónomo, la reactividad vascular en la placenta y cordón umbilical es humoral y mediada por factores autocrinos y paracrinos. Se identifican diferencias de respuesta a estos mediadores en el cordón umbilical, vasos de la placa coriónica y vasos de las vellosidades. Estas sustancias incluyen al sistema renina-angiotensina, histamina, endotelina, prostaglandinas, péptidos natriuréticos, óxido nítrico, monóxido de carbono, serotonina, hormona paratiroidea, urocortina y hormona liberadora de corticotropina entre otros. Hay evidencia de que la producción y respuesta a muchos de estos factores están alterados en las gestaciones que se complican con enfermedades como la preclampsia y diabetes. Otros componentes placentarios dentro de la histología normal son:

- **Trofoblasto intermedio:** También conocido como “células X”, se considera al trofoblasto extravelloso del frente invasivo inicial.

- **Células de Hofbauer:** Son los macrófagos localizados en el estroma vellositario. Su número disminuye a medida que la placenta madura. Al final de la gestación deben ser escasos. Aunque su función no es del todo comprendida, se cree que intervienen ante agentes infecciosos e interactúan con el estroma. También se menciona que intervienen en el equilibrio hídrico, transporte de nutrientes y homeostasis de la vellosidad mediante interacción con los fibroblastos estromales.

- **Fibrina:** Puede observarse de forma normal debajo de la placa coriónica denominándose “estría de Langhans” y también observarse debajo de la decidua basal o fibrina de Nitabuch. La fibrina perivellositaria también puede ser observada en placentas normales. Se distingue de los infartos antiguos debido a que el trofoblasto que reviste la vellosidad conserva la afinidad tintorial indicando viabilidad celular.

1.9.9. Cambios histológicos secundarios durante el envejecimiento placentario

Estas alteraciones aunque no se consideran normales, pueden ocurrir en placentas sin patología subyacente por lo que es indispensable tenerlos en cuenta.

- **Infartos:** Constituyen un fenómeno normal hasta cierto grado y no es infrecuente observarlos. No deben exceder el 10 al 15% del volumen placentario y generalmente son de localización periférica. Los centrales son considerados patológicos. Pueden ser según su tiempo de evolución agudos o crónicos. Una zona de infarto muy precoz puede sospecharse al observar congestión vascular intensa sin otro daño celular. Los agudos establecidos se visualizan como agregados de vellosidades, las cuales dan un aspecto de “aglutinación” con leucocitos polimorfonucleares dentro del espacio intervellositario. En los infartos crónicos las células de las vellosidades pierden afinidad tintorial y solo se reconocen agregados de vellosidades aglutinadas. En la placenta a diferencia de lo que sucede en otros tejidos es raro observar fibrosis en relación con zonas de infartos previos.

- **Calcificaciones:** Son un cambio común en la placenta madura, que en ocasiones se ha utilizado para evaluar la madurez placentaria mediante ecografía. Se considera como una respuesta de envejecimiento placentario (Figura 13).

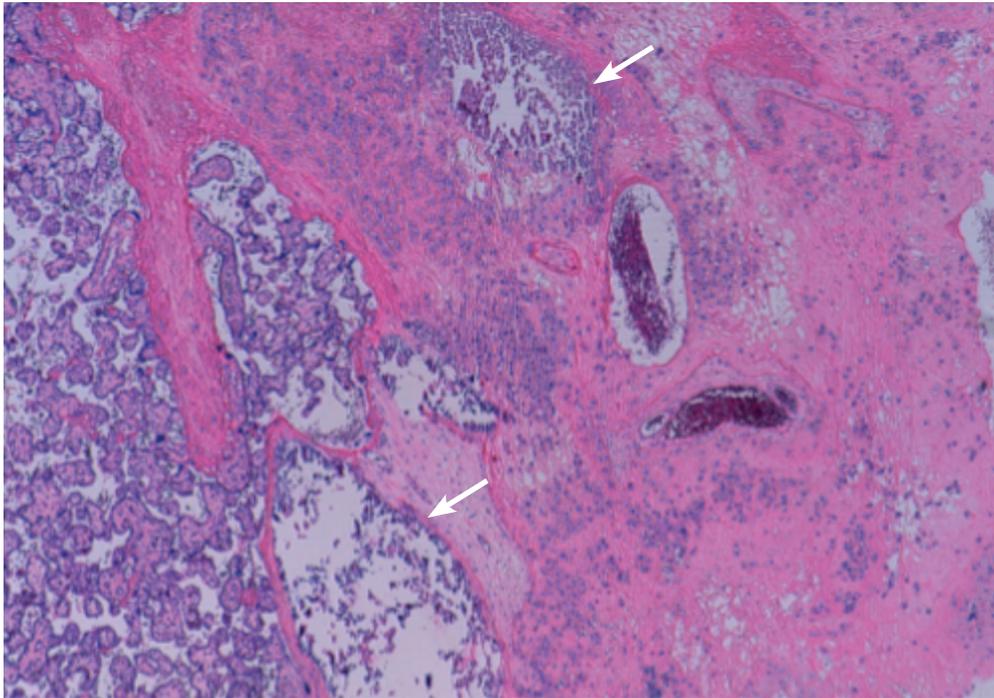


Figura 13. Corte histológico que muestra la presencia de calcificaciones en decidua basal (flechas). Placenta a término de embarazo normal. Tinción de hematoxilina y eosina a 10x.

- Aumento de la vascularización vellositaria: Es un cambio habitual en la placenta a medida que envejece.

El término corangiosis acuñado por Altshuler indica que debe existir un mínimo de 10 vellosidades cada una con 10 o más vasos sanguíneos, en 10 o más áreas de tres zonas placentarias que no muestren infartos y empleando un ocular de 10 aumentos. Esta clasificación tiene como limitante la ausencia de definición de lo que constituye un área. La corangiosis se considera patológica.

1.9.10. Fisiología placentaria

La placenta desempeña varias funciones críticas como el establecimiento de una “interfaz” entre madre y feto; previene el rechazo inmunológico del feto, permite el intercambio de gases, transporta nutrientes, elimina productos de desecho y secreta péptidos y hormonas esteroideas. Su función es metabólica, endocrina y de nutrición.

En cuanto a su función metabólica la placenta sintetiza glucógeno, colesterol y proteínas que constituyen fuentes de energía para el feto. Produce además lactato.

En relación a su función endocrina, hay que señalar que la placenta carece de inervación por lo que esta función es muy importante. Constituye un órgano endocrino que produce hormona gonadotropina coriónica, lactógeno placentario, citocinas, hormona del crecimiento, Factores de crecimiento de tipo insulina, hormona liberadora de corticotropina, factor de crecimiento endotelial vascular, factor de crecimiento placentario y hormonas esteroideas como estrógenos, progesterona y glucocorticoides. La función de transferencia de nutrientes la realiza a través del sincitiotrofoblasto mediante difusión simple, transferencia celular, endocitosis, exocitosis y disolución.

1.10. Histopatología placentaria

A pesar de las consideraciones mencionadas anteriormente sobre la gran importancia de la placenta, lamentablemente el estudio histopatológico de éstas sólo es efectuado en circunstancias clínicas muy particulares.

La mayoría de las placentas producto de los partos normales son descartadas de manera habitual por lo que constituye uno de los órganos menos estudiados dentro de la Anatomía patológica y en algunas instituciones se procesan el 10 al 20% como máximo (Hargitai *et al.*, 2004; Mills, 2012). Esta práctica de desechar las placentas normales, no es incorrecta ya que el estudio de todas las placentas no sería de interés médico e implicaría un costo económico muy elevado dado el gran número de nacimientos. Para el adecuado análisis histopatológico de la placenta debe examinarse meticulosamente tanto su aspecto externo (examen macroscópico), como su aspecto microscópico. Debe pesarse, medirse y realizar secciones en la cara materna cada 1 a 2 cm de intervalo para la búsqueda de lesiones pequeñas como infartos o trombos. Posteriormente debe fijarse en formaldehído al 10%.

Es relativamente frecuente que los médicos especialistas en Anatomía Patológica no estén familiarizados con la patología placentaria y desconozcan lesiones de relevancia clínica. Esto conduce a una gran variabilidad en los informes histopatológicos debido a una falta de estandarización. Una de las pocas guías sugeridas para el estudio histopatológico fue elaborada en 1997 por el colegio de patólogos americanos, un organismo muy importante que establece las principales normativas de estandarización en Anatomía Patológica. No se ha realizado actualización de esta última guía, si

esto es debido al escaso interés que la histopatología placentaria despierta en los patólogos, o bien debido a otras causas, no deja de ser llamativo que en la actualidad no se dispongan de guías más recientes para el estudio de un área tan importante (Langston *et al.*, 1997; Hargitai *et al.*, 2004).

Dado que únicamente un pequeño porcentaje de placentas son objeto de estudio microscópico, existen indicaciones precisas para seleccionarlas. Las indicaciones para el estudio histopatológico “indispensable” de la placenta sugeridas por Cox y Evans (2011) son las siguientes (Tabla 2).

Estudio indispensable	Estudio “deseable”	
Partos prematuros	Malformación congénita	Ruptura prematura de membranas
Sufrimiento fetal severo	Desprendimiento de placenta	Diabetes gestacional
Mortinatos	Inmunización materno-fetal	Infección por streptococcus
Abortos tardíos	Placenta acreta	Preeclampsia
Hidrops fetal	Embarazo gemelar no complicado	Coagulopatía materna
Retraso en el crecimiento intrauterino	Malformación de la placenta	Abuso de sustancias
Hiperpirexia materna	Malformaciones de cordón umbilical	

Tabla 2. Indicaciones para el estudio de la placenta según Cox y Evans (2011).

Además de las circunstancias clínicas mencionadas anteriormente en las que se recomienda el estudio histopatológico de la placenta, la importancia de este estudio se pone de manifiesto principalmente en los casos de autopsia fetal o perinatal, ya que se ha descrito que las alteraciones placentarias constituyen el origen de la muerte fetal del 44% hasta el 69,2% (Ovalle *et al.*, 2005; Bonetti *et al.*, 2011; Tellefsen y Vogt, 2011). De hecho la mayor parte de las placentas en los laboratorios de Anatomía patológica son remitidas con feto o recién nacido fallecido, siendo pocos los especímenes que se envían de forma aislada. Hay que tener en cuenta que los Obstetras son los primeros en visualizar esta estructura y deben tener noción de las principales alteraciones macroscópicas (aspecto externo) para detectar aquellas placentas que sin cumplir indicaciones estrictas de estudio, puedan ser objeto de un análisis histopatológico. Dentro del amplio espectro de la patología placentaria detectada en los casos de autopsia fetal y perinatal muestra se incluyen; infecciones bacterianas, infecciones virales, trombosis, infartos, anormalidades de su estructura, alteraciones producto de traumatismos directos, disfunción madurativa y alteraciones secundarias a enfermedad materna.

1.10.1. Aspecto macroscópico de la placenta del tercer trimestre (placenta normal)

La placenta a término muestra una superficie fetal con el amnios recubriéndola y en la que se identifica fácilmente el cordón umbilical y las membranas fetales. La cara materna con los cotiledones se reconoce por sus múltiples lóbulos. A la sección la placenta es de aspecto "esponjoso", de consistencia media-firme y en ella pueden identificarse zonas blanquecinas que corresponden a infartos (Figuras 14 y 15).

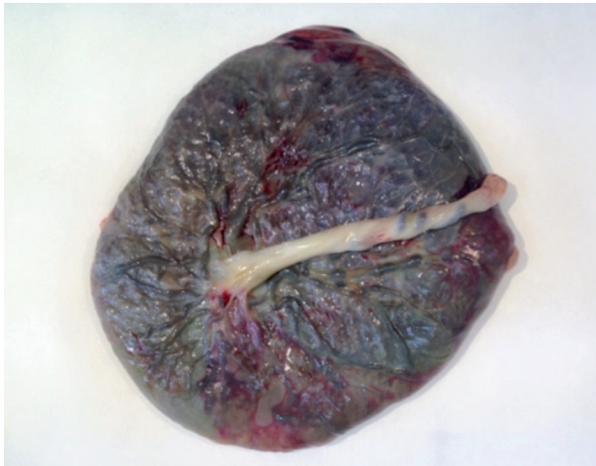


Figura 14. Aspecto macroscópico de la placenta a término en la cara fetal con revestimiento de amnios e inserción de cordón umbilical paracentral.



Figura 15. Aspecto macroscópico de la cara materna de la placenta anterior, con cotiledones íntegros ligeramente hipolobulados.

1.11. Placenta y preeclampsia

Se considera que la estructura diana del daño se encuentra en los vasos sanguíneos placentarios con lesiones vasculares con un amplio espectro morfológico y de forma secundaria alteraciones oclusivas en estas estructuras, observándose en menor medida procesos inflamatorios asociados (Salafia *et al.*, 1998). Además se ha mencionado que la preeclampsia y el retraso en el crecimiento intrauterino están caracterizados por una formación anormal de la placenta (placentación deficiente) de lo cual podría resultar un inadecuado flujo sanguíneo placentario (Cartwright *et al.*, 2001; Cnossen *et al.*, 2008). La alteración en el desarrollo del trofoblasto se ha mencionado como posible origen de esta patología.

1.11.1. Placentación deficiente en preeclampsia y crecimiento intrauterino restringido

Las alteraciones en la diferenciación trofoblástica ocurren en diferentes contextos fisiopatológicos y quizás tengan una relación estrecha con el origen de la preeclampsia y el crecimiento intrauterino restringido. Estas dos condiciones se asocian a defectos de la invasión endovascular del trofoblasto extraveloso, en las que algunas arteriolas espirales no son invadidas de forma adecuada, sino de forma parcial con persistencia de la pared muscular de los vasos sanguíneos. La placentación y la remodelación vascular constituyen un proceso de múltiples pasos en los que ciertos factores se han relacionado con una placentación inadecuada como la hipoxia, el estrés oxidativo, la respuesta materna atípica o excesiva al trofoblasto, la inflamación excesiva y el incremento en la producción de factores antiangiogénicos como la forma soluble del factor vascular de crecimiento endotelial, el receptor sFlt-1 y la endoglina soluble (Saito *et al.*, 2014). Los hallazgos recientes sugieren que la autofagia desempeña un papel importante en la invasión del trofoblasto extraveloso y el remodelado vascular en condiciones de hipoxia. Esta placentación inadecuada o deficiente determina la ausencia de adaptación fisiológica vascular a la gestación conduciendo como resultado final hipoxia/isquemia. Algunos autores consideran que los vasos de estas placentas son más susceptibles al daño vascular, pero otros lo ponen en duda (Aardema *et al.*, 2001). Aardema *et al.* (2001) encontraron que un grupo de 15 embarazos normales, 9 de estos casos mostraron una placentación adecuada completa con desaparición de la pared muscular de las arteriolas y el resto mostró persistencia de la pared muscular, asociando además cambios histopatológicos leves, entre ellos con aterosclerosis.

La densidad del trofoblasto, en general, no es diferente en las placentas de mujeres con preeclampsia y las de embarazos normales. El mecanismo de la invasión defectuosa puede involucrar defectos en la expresión de proteínas, por ejemplo, la expresión de integrina y el incremento en la expresión de TGF- β parece ser determinante en la inhibición de la invasión trofoblástica (Caniggia *et al.*, 1999). Además el trofoblasto de las mujeres con preeclampsia produce menos HGF, y el anticuerpo anti HGF bloquea la invasión inducida por HGF (Dokras *et al.*, 2001).

De cualquier forma, aunque todavía no se han determinado todos los mecanismos fisiopatológicos de esta enfermedad se considera que es una patología materna inducida por la placenta. Se

creo que las células endoteliales participan de forma muy importante en la patogénesis. Los macrófagos maternos, células natural killer y linfocitos quizás también jueguen un papel en la aterosclerosis, aunque el número de macrófagos de la decidua basal no difiere entre las placentas de mujeres con preeclampsia y las placentas normales. Recientemente, se ha mencionado que ciertos factores angiogénicos intervienen de forma relevante.

De todos los cambios descritos asociados a la preeclampsia ninguno se considera patognomónico, ya que muchos de los otros cambios histopatológicos descritos se han observado en condiciones tan diversas como diabetes, esclerodermia y lupus eritematoso sistémico (Kraus, 2004). Diversos autores han observado alteraciones placentarias relacionadas con esta enfermedad, pero todos ellos coinciden en que la estructura más afectada es el vaso sanguíneo.

1.12. Cambios histopatológicos en placentas con preeclampsia

Los principales cambios histopatológicos descritos en las placentas de mujeres con preeclampsia que recoge Benirschke (1995) uno de los grandes expertos en patología placentaria, son los siguientes:

- Arteriopatía decidual (En esta categoría se incluyen cambios como la placentación deficiente, aterosclerosis aguda y necrosis fibrinoide)
- Nodos sincitiales o cambio de Tenney-Parker
- Hipermaduración placentaria
- Trombo intervelloso (trombohematoma)
- Infarto vellositario
- Trombo en la circulación fetal
- Corioamnionitis.
- Tinción con meconio de membranas y/o cordón umbilical (pigmento intra o extracelular).
- Signos de disrupción placentaria indicados por la presencia de macrófagos con hemosiderina.
- Vasculitis linfocitaria, trombosis y necrosis decidual asociadas.

A continuación se describen las características particulares de cada uno de éstos.

1.12.1. Arteriopatía o vasculopatía decidual

La vasculopatía decidual describe un conjunto de alteraciones que afectan a las arterias espirales de la decidua basal e incluye: aterosclerosis aguda, necrosis fibrinoide y placentación deficiente (Kraus, 2004).

1.12.1.1. Aterosclerosis aguda

La aterosclerosis aguda es la principal forma de vasculopatía decidual y consiste en la presencia de macrófagos en la pared arteriolar. La primera descripción la hicieron Zeek y Assali en 1950 y posteriormente Robertson *et al* (1967) estudiaron este cambio en placentas de mujeres con preeclampsia. La aterosclerosis aguda se observa en cerca del 50% de las placentas de preeclampsia, pero su detección podría estar infraestimada (Kraus, 2004). Microscópicamente consiste en la presencia de macrófagos espumosos en la pared de las arteriolas espirales de la decidua con depósito de material eosinófilo hialino. Algunos consideran que únicamente puede ocurrir en vasos sanguíneos que no han experimentado los cambios fisiológicos descritos de pérdida de la pared muscular (Khong, 1991; Medrano *et al.*, 2008). Otros han encontrado que este tipo de cambios también pueden encontrarse en placentas de gestaciones normales aunque de forma leve, es decir, en casos con una placentación adecuada con desaparición de la pared muscular de las arteriolas (Aardema, 2001). A pesar de estos hallazgos aparentemente contradictorios a la fisiopatología propuesta por este modelo de placentación deficiente mencionado, es evidente que este cambio no es exclusivo de la preeclampsia, pues su presencia se ha demostrado en retraso en el crecimiento intrauterino restringido, diabetes, lupus eritematoso sistémico y mujeres con hipertensión arterial crónica. Algunos autores han propuesto que podría constituir un marcador de incompatibilidad materno-trofoblástica (Khong, 1991).

1.12.1.2. Placentación deficiente

Consiste en la ausencia del reemplazo de la media de las arterias deciduales por trofoblasto después de las 20 semanas de gestación, que a nivel morfológico consiste en la persistencia de pared muscular gruesa en las arteriolas de la decidua parietal y basal o hipertrofia de la pared muscular. Se acompaña de un incremento de la proliferación trofoblasto intermedio inmaduro en la base placentaria (Myatt,

2002; Kraus, 2005). En relación a lo anterior, los estudios de inmunohistoquímica realizados en el lecho placentario sugieren que el trofoblasto y las células endoteliales coexisten de forma transitoria en las paredes de los vasos sanguíneos de esta zona (Pijnenborg *et al.*, 1980; Zhou *et al.*, 1997). Posteriormente, reemplazan parcialmente al revestimiento endotelial y a la mayor parte del tejido muscular en la pared (Pijnenborg *et al.*, 1980; Enders y King, 1991; Blankenship *et al.*, 1993; Meekins *et al.*, 1997). Este suceso, crea un flujo sanguíneo rápido y que ofrece baja resistencia, conduciendo a una óptima circulación. En algunos casos de diabetes o retraso en el crecimiento intrauterino las arteriolas deciduales muestran también esta hipertrofia mural (capa muscular), de forma muy similar a los cambios arteriulares observados en la aterosclerosis renal. A este cambio se le denomina vasculopatía decidual hipertrófica o simplemente arteriolas deciduales de pared gruesa. (Kraus, 2005).

1.12.1.3. Necrosis fibrinoide

Consiste en la degeneración hialina de la pared vascular con engrosamiento de ésta y depósito de material eosinófilo de tipo fibrina.

1.12.2. Nodos sincitiales o cambio de Tenney-Parker

Es un cambio que se detecta en placentas de mujeres con preeclampsia y además en placentas con signos de baja perfusión. Se visualiza como agregados de múltiples núcleos hiper cromáticos. Se acompaña de vellosidades terminales muy pequeñas y en su forma extrema de vellosidades muy pequeñas de aspecto hipoplásico se considera lo que se considera bajo el término de “aceleración en la maduración” (Kraus, 2005).

1.12.3. Hiper maduración placentaria

La placenta normal se caracteriza por una maduración heterogénea, es decir, la presencia de vellosidades maduras e inmaduras entremezcladas en una misma placenta. Por otro lado, la hiper madurez placentaria de tipo heterogéneo sólo se observa en embarazos pretérmino, y una de las condiciones asociadas es la preeclampsia (Kingdom y Kaufmann, 1997). Todos los casos de hiperma-

durez placentaria homogénea (difusa) son considerados anormales, y son característicos de formas de hipoxia preplacentaria y de algunas formas de hipoxia postplacentaria.

1.12.4. Trombo intervelloso (trombohematoma)

Son acúmulos de sangre coagulada en el espacio intervelloso.

1.12.5. Infarto

Es un área focal de necrosis vellositaria de tipo isquémico determinada por una flujo sanguíneo insuficiente a través de las arterias espirales. Se consideran pequeños si son menores a 3 cm, y grandes si son mayores a 3 cm. Constituyen un cambio muy frecuente en las placentas en general, detectándose hasta en un cuarto de las placentas normales. Su frecuencia aumenta en placentas con preeclampsia hasta dos terceras partes de éstas. La localización del infarto es importante ya que los que muestran importancia patológica son los de localización central. Los ubicados cerca del margen placentario son comunes y no se relacionan con patología subyacente. La presencia de infartos grandes de más de 3 cm o de infartos centrales múltiples o bien afectación de más del 50% del volumen placentario sugieren patología placentaria subyacente. Dependiendo del tiempo de evolución pueden ser agudos o crónicos. Es interesante que a diferencia de lo que ocurre en otros sitios como el corazón, en los infartos placentarios no hay sustitución por fibrosis, ni fagocitosis de células necróticas. Probablemente sea a causa de un microambiente inmunitario diferente.

1.12.6. Trombo en la circulación fetal

Es la oclusión de alguna arteria fetal principal que produce un área de avascular en la vellosidad y/o fibrosis.

1.12.7. Corioamnioititis

Es la Presencia de inflamación aguda en al menos las membranas placentarias (grado I), en el corion mesodérmico (estadio II), mesodermo amniótico (estadio III) y necrosis amniótica (estadio IV).

1.12.8. Otros cambios histopatológicos

Otros autores describen cambios asociados a preeclampsia como hiperplasia sincitial, depósito de fibrina, hipervascularidad, microcalcificaciones, hemorragia del estroma, fibrosis y trombosis con infartos. (Romero, 2008). De forma adicional, en un estudio realizado por Cortés y cols. se describieron los siguientes hallazgos histopatológicos en placentas de pacientes con hipertensión gestacional: cambios isquémicos (los más frecuentes), amnioitis (funisitis y villositis), infartos e hipervascularidad (Cortés y Muñoz, 2007). De Zhang *et al* (2006) encontraron que las alteraciones placentarias características de la hipertensión inducida por el embarazo se encuentran en casi una de cada cinco mujeres con esta enfermedad. Otros autores señalan que las alteraciones vasculares deciduales, el aumento en la cantidad de nódulos sincitiales, los infartos, las hemorragias, las lesiones del circuito vascular-fetal, debidos a necrosis hialina de la media de los vasos y células xantomatosas, son las alteraciones más frecuentes de la hipertensión gestacional. En esta serie de casos se observó que de 350 placentas con preeclampsia presentaron aterosclerosis aguda y necrosis fibrinoide en el 21.4%, 32.3% infartos, trombos intervellosos en el 18.9%, corangiosis en el 10.9% y corioamnioitis en el 8.6% y concluye con que 1 de cada 5 placentas muestran alteraciones histopatológicas por preeclampsia y un dato interesante, que la vasculopatía era un cambio más frecuente en placentas pretérmino que en las de término (27% versus 10%).

De Moldenhauer *et al* (2003) describieron una mayor frecuencia de arteriopatía decidual, trombosis en la circulación fetal, infartos centrales, trombosis en las intervellósidades e hipermadurez de las vellosidades, y concluyeron que las placentas de mujeres con preeclampsia tienen mayor grado de alteraciones patológicas. Este mismo grupo de estudio encontró diferencias significativas en el grupo de pacientes con preeclampsia, ya que la arteriopatía decidual, los infartos, y la hipermaduración de las vellosidades fueron mayores en el grupo de mujeres con preeclampsia pretérmino en contraste con las del grupo a término (Moldenhauer *et al.*, 2003). Se ha planteado que el daño placentario en los casos de preeclampsia que culminan con parto pretérmino, es mayor que en los que se producen a término, por lo que se ha propuesto que el mecanismo de daño tisular podría ser diferente en distintas etapas de la gestación, con mayor

susceptibilidad de la placenta pretérmino. (Moldenhauer *et al.*, 2003). Por otro lado, otras revisiones de placentas como la de Saleh *et al* (2008), señala que las placentas de mujeres con preeclampsia tienden a mostrar agrupaciones de las vellosidades, así como prolongaciones o “brotes” y “puentes” de sincitiotrofoblasto, lesiones descritas escasamente en la literatura. Los brotes de sincitiotrofoblasto consisten en protuberancias que emergen de la superficie de la vellosidad, y los “puentes” de sincitiotrofoblasto son pequeñas conexiones tisulares muy finas entre dos vellosidades. Las alteraciones en el cordón umbilical han sido referidas principalmente como daño vascular con engrosamiento de la pared del vaso.

1.13. Correlación de cambios histopatológicos en casos de preeclampsia

Aunque el examen histopatológico de la placenta de mujeres con preeclampsia muestra cambios histopatológicos bastante característicos, no parece haber una correlación estrecha entre su gravedad y los cambios histopatológicos, es decir, mujeres con cifras de tensión altas no necesariamente muestran grandes cambios tisulares (Maly *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2006). De Vinnars *et al* (2008) demostraron que los hallazgos histopatológicos en mujeres con preeclampsia y preeclampsia severa con síndrome de hemólisis, afectación hepática, plaquetopenia (HELLP) no difieren mucho, contrario a lo que podría esperarse (Vinnars *et al.*, 2008). La vasculopatía decidual, por ejemplo, no es más frecuente en las mujeres con síndrome de HELLP. Los infartos, trombosis intervellosa y desprendimiento de placenta fueron más frecuentes en mujeres con preeclampsia sin síndrome de HELLP, comparados con las del grupo de preeclampsia con HELLP (Vinnars *et al.*, 2008). Estos datos coinciden con el de otros autores que no detectaron diferencias histopatológicas entre los dos grupos excepto por un ligero aumento de desprendimiento de placenta en el grupo de preeclampsia severa (Smulian *et al.*, 2004). La baja frecuencia con que se detectan los cambios histopatológicos, ya descritos, probablemente sugiera que la preeclampsia es más bien una enfermedad funcional de la vasculatura materna que una enfermedad que produzca cambios morfológicos tisulares solamente determinados por la presencia de la estructura placentaria.

1.14. Apoptosis placentaria

Para el mantenimiento de la fisiología placentaria normal debe mantenerse un equilibrio entre la muerte y la proliferación celular. Existen dos formas ya conocidas de muerte celular; la necrosis y la apoptosis, ambas se producen a través de vías de señalización diferentes y producen distintos cambios tisulares secundarios. La apoptosis es un fenómeno celular, regulado genéticamente a través de complejas vías de señalización. Este fenómeno puede ocurrir en condiciones fisiológicas durante la embriogénesis, involución de tejidos por cese de estímulo hormonal, muerte de células que ya cumplieron su función, eliminación de linfocitos autorreactivos, muerte celular inducida por linfocitos CD8 citotóxicos, o en condiciones patológicas (muerte celular por estímulos lesivos, lesión celular por virus, atrofia patológica de tejidos) (Kutran y Robins, 2010).

Morfológicamente la apoptosis a nivel óptico con la tinción de hematoxilina y eosina se caracteriza por:

- Encogimiento celular, citoplasma denso.
- Condensación de la cromatina periférica, debajo de la membrana nuclear.
- Formación de protusiones citoplasmáticas que al sufrir fragmentación forman los cuerpos apoptóticos.
- Fagocitosis de cuerpos apoptóticos por macrófagos y digestión en sus lisosomas.

1.14.1. Placenta normal y apoptosis

La apoptosis generalmente afecta las células aisladas o a pequeñas agrupaciones celulares, y siempre se mantiene la continuidad de la membrana plasmática y a diferencia de los cambios tisulares con inflamación que se producen en la necrosis, cuando sucede la apoptosis, se producen escasos componentes de degradación celular en ausencia de signos inflamatorios, los que son eliminados de forma muy rápida y eficiente por medio de la fagocitosis que efectúan los macrófagos, células cruciales en este proceso de limpieza de los residuos apoptóticos (Kutran y Robins; Gregory y Devitt, 2004). Se ha propuesto que esta variante de muerte celular es parte del desarrollo normal de la placenta y parte de un mecanismo de envejecimiento, existiendo diferencias entre la apoptosis de la decidua y

el trofoblasto (Smith *et al.*, 1997; Sakiumar *et al.*, 1999; Allaire *et al.*, 2000). La apoptosis en la decidua parece ser importante para establecer la condición de compatibilidad inmune del útero, mientras que en la parte vellositaria interviene en la regulación del crecimiento placentario (Jerzak y Bischof, 2002). Esta evidente diferencia de función del mecanismo de la apoptosis está pues relacionada con las diferentes funciones de estas partes de la placenta. Según diversos autores en placentas normales la apoptosis es generalmente rara durante el primer trimestre, incrementándose durante los dos últimos trimestres (Jerzak y Bischof, 2002).

1.14.2. Apoptosis en preeclampsia

Durante el embarazo normal algunos fragmentos de sincitiotrofoblasto se desprenden a la circulación sanguínea materna (100.000 fragmentos por día aproximadamente), como resultado de la apoptosis sin producir en la madre ninguna respuesta inmunológica. Algunos autores mencionan que la apoptosis del sincitiotrofoblasto se incrementa del 2 al 3% de un embarazo normal al 5 a 6% en embarazos complicados con preeclampsia o crecimiento intrauterino restringido. (Leung *et al.*, 2001; Ishihara *et al.*, 2002).

Algunos estudios han puesto particular énfasis en el rol de la apoptosis en la placenta en relación con la fisiopatología de la preeclampsia y el crecimiento intrauterino restringido (DiFederico *et al.*, 1999; Levy *et al.*, 2002). Diversos autores han encontrado incremento de la apoptosis en placentas de mujeres con preeclampsia en comparación con mujeres con embarazos sin ésta enfermedad (Smith *et al.*, 1997; Allaire *et al.*, 2000; Ishihara *et al.*, 2002). Los mecanismos moleculares que conducen a este fenómeno son complejos e involucran a numerosas moléculas y aún no son comprendidos del todo. De Myatt. (2002) menciona que existe mínima apoptosis en los embarazos normales en contraste con un 15 a 50% de células apoptóticas en la placenta de mujeres con preeclampsia (Myatt, 2002).

1.14.3. Marcadores de apoptosis en placentas con preeclampsia

Se han propuesto y descrito múltiples marcadores de apoptosis en la placenta. Muchos de los estudios realizados se han efectuado en ratones y otros animales y describen disminución en la ex-

presión inmunohistoquímica de marcadores de proteínas antiapoptóticas como bcl-2, mdm2, Mcl-1 e inhibidores de la apoptosis (IAPs), que antagonizan los efectos de proteínas proapoptóticas como p53, p21, Bax/ Bak, Mtd y smac (Sharp *et al.*, 2014). La pro-caspasa 3 y la caspasa 8 mostraron incremento a nivel de proteína, pero sin traducción a nivel inmunohistoquímico (Sharp *et al.*, 2014). Se ha demostrado también un aumento de la expresión de marcadores como p53, p21, NF-Kappa B, Bax, Cox-2 (Sharp *et al.*, 2014).

1.14.3.1. Mdm2

Mdm2 en las placentas normales se expresa de forma intensa y en más del 50% en el citoplasma tanto del citotrofoblasto como del sincitiotrofoblasto y células estromales (Fulop *et al.*, 1998; Sharp *et al.*, 2014). En la preclampsia la positividad disminuye principalmente en el sincitiotrofoblasto (Sharp *et al.*, 2014).

1.14.3.2. Bak y Bcl-2

En las placentas normales Bak se expresa en el citoplasma de las células estromales, citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto (Sharp *et al.*, 2014). Según este mismo autor Bcl-2 muestra positividad de forma débil en el citotrofoblasto con ausencia de expresión en el citoplasma de las células estromales. No se encontraron alteraciones en la expresión de Bak y Bcl-2 en mujeres con preeclampsia en esta revisión.

1.14.3.3. Bax

De acuerdo con Sharp *et al* (2014), los niveles proteicos de Bax mostraron incremento en mujeres con preeclampsia, sin asociar un incremento en el mRNA. En las placentas normales Bax se expresó en el citoplasma de las células estromales en el citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto. Aban y cols.(2004) describen un incremento significativo en la expresión inmunohistoquímica de NF-kappa B en placentas con retraso en el crecimiento intrauterino y en placentas de mujeres con preeclampsia en comparación con el grupo de control. Además detectaron incremento de M30 y

caspasa 3, y disminución de la expresión de bcl-2 en ambas condiciones. Estos autores consideran que el incremento en la apoptosis trofoblástica es al menos parcialmente inducida por NF-kappa B y la reducción de expresión de bcl-2.

1.14.3.4. p53

La proteína p53 es producto de uno de los genes supresores tumorales más importantes que se han estudiado. Su estudio inicial fue en 1979, pero aún continúa sorprendiendo ya que posee un funcionamiento complejo y continuamente se realizan nuevas aportaciones científicas en relación a las interacciones de este gen y su proteína con otros mediadores celulares. Su gran relevancia está dada por su participación crucial en el ciclo celular normal. Este gen se encuentra en el brazo corto del cromosoma 17p13.1 y codifica una proteína nuclear con un peso de 53 Kd (Kumar, 2010). p53 es el blanco más habitual de la alteración genética en los tumores humanos. Aproximadamente el 50% de las neoplasias humanas contiene mutaciones en este gen. Es evidente que p53 actúa como un policía molecular que evita la propagación de células genéticamente dañadas. Las actividades funcionales más importantes de la proteína p53 son la detención del ciclo celular y la iniciación de la apoptosis en respuesta al daño del DNA (Kumar, 2010). p53 actúa como una especie de freno de emergencia cuando el DNA está dañado por irradiación, luz UV o agentes químicos mutágenos y a cambios en el potencial redox celular, hipoxia, senescencia y otras situaciones estresantes. Tras el daño del DNA, hay un aumento rápido en los niveles de p53. Diversas cinasas se activan en respuesta a este daño, y estas enzimas fosforilan p53 y, a continuación la proteína se despliega, es capaz de unirse al DNA y se convierte en un factor activo de transcripción. p53 estimula la transcripción de varios genes que median la detención del ciclo celular y la apoptosis. La detención del ciclo celular inducida por p53 ocurre al final de la fase G1 y está producida por la transcripción dependiente de p53 del inhibidor de CDK p21. Si el daño en el DNA se repara exitosamente, p53 activa MDM2 cuyo producto se une a p53 y la degrada, eliminando así el bloque del ciclo celular. Si durante el bloque el DNA no puede repararse con éxito, la p53 induce la activación de genes inductores de la apoptosis como BAX (Vogelstein, 2000., Xia, 2011)(Figura 16).

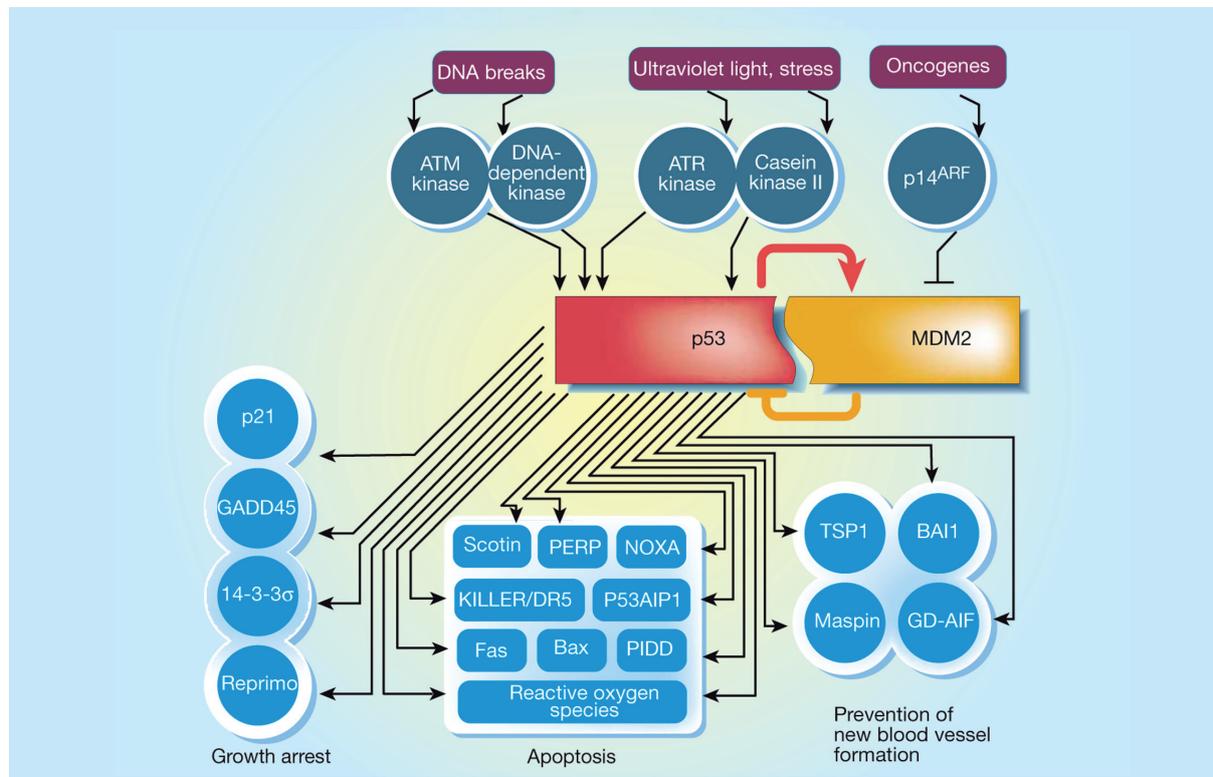


Figura 16. Imagen que muestra el modo de activación (por daño al DNA) que estimula actividad enzimática que codifica la función de p53 y su regulador MDM2. Los niveles de proteína p53 activada aumentan. Como resultado se activan otros genes al unirse la proteína p53 activada. Algunos de estos genes determinan detención o no progresión del ciclo celular y otros conducen a la apoptosis. p21 se relaciona principalmente con la no progresión del ciclo. Tomado de Vogelstein (2000).

1.14.3.5. p21

El conocimiento del gen que codifica esta proteína ha cambiado a lo largo de los años recientes. Inicialmente sólo se consideraba una proteína anticáncer por sus efectos de detención del ciclo celular tras la activación por p53, pero en la actualidad se han propuesto mecanismos proapoptóticos producto de su interacción con otros mediadores (Gartel, 2002., Piccolo, 2012). El término p21 se emplea para un gen humano localizado en el cromosoma 6 (ubicación 6p21.2) y que es miembro de la familia Cip/Kip de las cinasas dependientes de ciclinas. Esta familia incluye a la p27 y p57. Estas proteínas fueron identificadas por su habilidad para regular el ciclo celular mediante la inactivación de las cinasas dependientes de ciclinas (CDKs). Posterior al daño del DNA y activación de la p53, la p21 juega un papel importante determinando la detención del ciclo celular en la fase G1 impidiendo la replicación del ADN.

Las funciones de p21 de inhibición del crecimiento o detención del ciclo celular son bien conocidas, aunque algunos trabajos proponen que además tiene la capacidad de ejercer diferentes funciones involucradas con la apoptosis. La expresión de la p21 promueve la apoptosis dependiendo de las condiciones de stress celular y en esta situación tiende a la mayor expresión de forma independiente y no relacionada con la interacción con p53. Los mecanismos exactos mediante los que se desarrolla este fenómeno no han sido esclarecidos completamente y parecen depender de muchos factores relacionados con el ambiente de la célula. Se han propuesto diferentes funciones en relación a la localización subcelular en la expresión de p21. En el núcleo se considera que ejerce su función de mediador clave de la función de p53, inhibiendo los complejos CKS/ciclina y PCNA y evitando la progresión del ciclo celular, y en el citoplasma los cambios postraducción de p21 por PI3K/Akt y PKC permiten a p21 inhibir la cascada de caspasas e interactuar con diversas proteínas pro-apoptóticas como SAPK and ASK1 (Piccolo, 2012).

Las funciones de p21 se relacionan en parte con la respuesta celular al estrés. Aunque como se había mencionado el gen p21 es el principal blanco transcripcional del gen de supresión tumoral p53, sin embargo, mutaciones sobre el p21 que hacen que pierda sus funciones no se ven acumuladas en el cáncer, a diferencia del p53, de modo que dichas mutaciones nos predisponen a la aparición del cáncer. De hecho, los ratones con ingeniería genética en los que les falta el p21, se desarrollan normalmente y no se ven susceptibles a una mayor incidencia de cáncer, de nuevo, a diferencia de lo que ocurre con el p53. El gen p21 codifica a una proteína que es inhibidora de una quinasa dependiente de ciclina, uniéndose e inhibiendo los complejos CDK2 y CDK4. Por ello, funciona como un regulador del progreso del ciclo celular a nivel de la fase G1. La expresión de este gen se ve íntimamente controlada por el gen supresor tumoral p53, por lo que el control del ciclo celular en G1 es dependiente de p53 y es la forma en que la célula detiene el ciclo celular como respuesta a un estímulo estresante. La proteína codificada por el gen, el CDKN1A es capaz de interactuar con el antígeno nuclear de una célula proliferante (PCNA), un factor accesorio del ADN polimerasa, por lo que juega un papel crítico en la replicación del ADN y de la reparación de daños ocurridos en el ADN durante la fase S del ciclo celular. Esta proteína ha sido vinculada a la ruptura

por medio de activación de caspasas, lo que conlleva a una activación dramática de CDK2 y puede que sea clave en la ejecución de la apoptosis o muerte celular programada después de la activación de las caspasas. Algunos factores de crecimiento como el factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento fibroblástico y factor estimulante de colonias granulocitos-macrófagos pueden inducir la expresión de p21 en las células con p53 salvaje (Fulop *et al.*, 1998). La proteína mdm2 puede de forma indirecta bloquear la función de p21 mediante la formación de complejos con el producto de la proteína del gen Rb (Fulop *et al.*, 1998).

Por otra parte, otras fuentes mencionan que p21 podría actuar como inhibidor de la apoptosis en ciertas condiciones (Xia *et al.*, 2011, Garte, 2002). En este sentido, aunque existen diversos estudios aportando información al respecto, la mayoría se han realizado en series de casos oncológicos y que involucran agentes de quimioterapia y experimentales entre otros factores. Algunos de estos estudios analizados extensamente por Xia *et al.* (2011) sugieren que probablemente la actividad de la p21 como proapoptótica o antiapoptótica, dependa de varios factores y de una interacción compleja con otros mediadores, siendo aceptado en principio y en condiciones normales su mecanismo regulador del ciclo celular favoreciendo la apoptosis tras su inducción por p53. Se puede concluir que dado los avances recientes en el conocimiento de este gen y su proteína se considera que puede funcionar en circunstancias concretas como un modulador de la apoptosis que actuará en uno u otro sentido dependiendo de las circunstancias particulares. Esta actividad apoptótica inducida por p53 según algunos autores puede realizarse dependiente o independientemente de p53 (Piccolo, 2012., Wu, 2002., Gartel *et al.*, 2002).

2. Justificación y Objetivos

CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA Y EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA
DE LOS MARCADORES p53 Y p21 EN EL TROFOBLASTO PLACENTARIO
EN PREECLAMPSIA

2.1. Justificación

La preeclampsia es una enfermedad frecuente en el embarazo, que se incluye dentro del grupo denominado trastornos hipertensivos del embarazo y constituye hasta un 10% de las gestaciones de forma global. Puede llegar a afectar hasta un 6 a 7% de las mujeres nulíparas y entre el 3 y el 6% de todas las gestaciones. En algunos países desarrollados como Estados Unidos de América la incidencia se ha incrementado hasta un 25% durante las pasadas dos décadas. Estos datos que indican una gran incidencia a nivel global, confirman la gran relevancia de la enfermedad y la imperiosa necesidad de realizar investigación en dicho tema.

El estudio histopatológico de la placenta no constituye una rutina en los laboratorios de Anatomía Patológica, ya que lamentablemente sólo es efectuado en circunstancias clínicas muy particulares. Por ello, es relativamente frecuente que los médicos especialistas en Anatomía Patológica no estén familiarizados con la patología placentaria lo que determina una gran variabilidad en los informes histopatológicos debido a la falta de estandarización. La preeclampsia determina cambios en la placenta que son observables mediante examen histopatológico aunque en grado variable y sin correlación clínico-patológica directa con la gravedad de las cifras tensionales. Se considera que la estructura diana del daño se encuentra en los vasos sanguíneos placentarios con lesiones vasculares con un amplio espectro morfológico. Además se ha mencionado que la preeclampsia y el crecimiento intrauterino restringido están caracterizados por una formación anormal de la placenta (placentación deficiente) de lo cual podría resultar el inadecuado flujo sanguíneo placentario. La alteración en el desarrollo del trofoblasto se ha mencionado como posible origen de esta patología. Algunos estudios han puesto particular énfasis en el rol de la apoptosis en la placenta en relación con la fisiopatología de la preeclampsia y el crecimiento intrauterino restringido.

Diversos autores han encontrado incremento de la apoptosis en placentas de mujeres con preeclampsia en comparación con mujeres con embarazos sin ésta enfermedad. Los mecanismos moleculares que conducen a este fenómeno de apoptosis son complejos y aún no son comprendidos del todo, por todas las razones expuestas anteriormente es necesario efectuar estudios adicionales que permitan una mejor comprensión de cómo se desarrollan estos procesos.

Existen escasas referencias en relación a la expresión inmunohistoquímica de la p53 y la p21 en el citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto de placentas de mujeres con preeclampsia por lo que el presente estudio contribuye al respecto, complementando con la aportación de la expresión de la apoptosis a nivel óptico y además de forma novedosa haciendo una correlación con las altas resistencias uterinas alteradas en estas pacientes.

2.2. Objetivos generales

- Describir los principales hallazgos histopatológicos en placentas con preeclampsia.
- Describir la expresión inmunohistoquímica de los marcadores p53 y p21 en el trofoblasto en placentas con preeclampsia y placentas de embarazo normal.

2.3. Objetivos específicos

- Identificar las diferencias histopatológicas entre placentas con preeclampsia y placentas del grupo control.
- Identificar las diferencias histopatológicas entre el grupo de preeclampsia pretérmino y preeclampsia a término.
- Identificar si existen diferencias de expresión de marcadores de inmunohistoquímica p53 y p21 entre las mujeres con preeclampsia y las del grupo control.
- Identificar si existen diferencias de expresión de marcadores de inmunohistoquímica p53 y p21 entre las mujeres con preeclampsia pretérmino y preeclampsia a término.
- Identificar si existe relación entre la apoptosis evaluada mediante hematoxilina y eosina y la expresión de marcadores de inmunohistoquímica p53 y p21.
- Identificar si existe relación entre las altas resistencias uterinas y la arteriopatía decidual en las placentas con preeclampsia.

3. Material y Métodos

CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA Y EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA
DE LOS MARCADORES p53 Y p21 EN EL TROFOBLASTO PLACENTARIO
EN PREECLAMPSIA

3.1. Población de referencia y de estudio

En esta investigación estudiamos placentas procedentes de mujeres del área de salud I (Murcia/Oeste) que durante el embarazo presentaron preeclampsia. Se utilizó un grupo control de mujeres con gestaciones normales. El estudio se realizó en colaboración con el Área de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Murcia y la Unidad de Medicina Maternofetal (UMMF) del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA), del cual uno de los facultativos especialistas obtuvo los datos clínicos y muestras biológicas. El estudio histopatológico y la inmunohistoquímica (IHQ) se realizó en el Servicio de Anatomía Patológica de este Hospital. Las pacientes pertenecen al Área de salud I (Murcia/Oeste) asignadas al Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA), que además constituye el centro de referencia en Obstetricia para las áreas VI (Vega Media del Segura), VII (Murcia/Este) y IX (Vega Alta del Segura). El HCUVA cuenta con 863 camas y es Centro de referencia regional (1.314.140 habitantes) de diversas especialidades como Cirugía Cardiovascular, Torácica, Plástica y Neurocirugía. También es referente en trasplantes de hígado, riñón y corazón. Por todo lo anterior es considerado como uno de los mejores complejos hospitalarios del país. El Hospital además, brinda la atención pediátrica y tocológica de las áreas I, VI, VII y IX y posee una de las maternidades más importantes del país.

3.2. Ámbito de estudio

En la mayoría de las grandes maternidades del mundo se está produciendo una progresiva especialización en distintas áreas hacia el control del desarrollo fetal, el diagnóstico de sus distintas patologías y la formación en técnicas innovadoras de terapia en la vida intrauterina. La coordinación entre los diversos profesionales se hace imprescindible cuando nos referimos a procesos de gran complejidad y además este tipo de centros desempeña un papel fundamental no solo en la gestación normal, sino también en el manejo y tratamiento adecuado del embarazo con patología subyacente y del neonato con enfermedad. Inicialmente se creó la Unidad de Día Obstétrica (UDO) el 3 de octubre de 2005. Desde entonces la Región desarrolló un proceso de modernización imparable, cuyos frutos a nivel asistencial y económico ha hecho posible dar un salto cualitativo con

la creación y el desarrollo de una moderna Unidad de Medicina Materno Fetal (UMMF). El 15 de octubre de 2008 la UMMF inició su actividad, estando constituida por la Unidad de Día Obstétrica (UDO), la planta de Hospitalización de Gestantes y un área de Medicina Fetal (UMF). La Institución de mayor reconocimiento internacional en Diagnóstico Prenatal (Fundación para la Medicina Fetal de Londres), dependiente del King's College, ha validado esta sistemática de trabajo con una tasa de aciertos diagnósticos no invasivos del 95% y una tasa de falsos positivos del 5%. De forma global se atienden una media de 7200 partos anuales, constituyendo la 1ª maternidad en nº de partos a nivel nacional. En las nuevas instalaciones actualmente se disponen de 12 salas individuales para la dilatación-paritorio, parto, recuperación y dos quirófanos. Algunos datos de casuística de la UMMF sugieren el gran volumen de pacientes que son evaluadas. Para hacerse una idea de lo anterior, por ejemplo en 2013 se realizaron 34.518 ecografías y en 2014 49.558 estudios de este mismo tipo. Se estudiaron 643 pacientes con preeclampsia en 2013 y 1704 casos en 2014.

3.3. Selección de pacientes

La selección de pacientes incluidas en esta investigación, obtención de datos clínicos, recepción de placentas en fresco, registro de las placentas y parte indispensable del procesamiento de las muestras con resultado final de inclusión en bloques de parafina, fue realizado por un facultativo de la unidad de Medicina fetal bajo la tutela del Área de Fisiología Humana de la Facultad de Medicina de Murcia.

El estudio histopatológico y de inmunohistoquímica se realizó en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Éste cuenta con una zona de recepción de muestras biológicas, una sala de tallado donde las muestras son objeto de disección y tallado, un laboratorio de inmunohistoquímica con procesadores automatizados, un laboratorio de procesamiento de las muestras (inclusión en parafina, corte con micrótopo y tinción con colorantes básicos), así como una sala de autopsias. El Servicio de Anatomía Patológica realiza un número elevado de biopsias anuales, debido a que además de atender las áreas de salud descritas, el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca cuenta con Unidades especializadas únicas en la región como Cirugía cardiovascular y torácica entre otras, con lo que la población que abarca es mucho mayor de

la esperada. Además este servicio ha incorporado nuevas áreas como Banco de Cerebros, Banco de tumores y técnicas de biología molecular y otras técnicas diagnósticas complementarias a esta especialidad médica. Durante los años comprendidos entre el 2010 y 2012 se realizaron 55.291 biopsias en total, con 18.384 en 2010, 18250 en 2011 y 18657 estudios en 2012. Como punto de referencia más reciente en el año 2014 se realizaron 66 estudios histopatológicos de placentas. Cabe mencionar que hasta un 80% de éstas se estudiaron en conjunto con el feto o recién nacido y únicamente un 20% de forma aislada por algún motivo concreto.

3.3.1. Criterios de inclusión y exclusión

La población de estudio fue la que cumplió los criterios de selección que se mencionan a continuación:

3.3.1.1. Criterios de inclusión:

- Bloques de parafina de placentas de pacientes con diagnóstico de preeclampsia cuyo parto se realizó en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca entre enero del 2010 a enero del 2012.
- Bloques de parafina de placentas de pacientes con embarazo normal cuyo parto se realizó en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca entre enero del 2010 a enero del 2012.

3.3.1.2. Criterios de exclusión:

- Bloques de parafina de tejido placentario procedentes de gestantes con diagnóstico de preeclampsia cuyo parto se realizó en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca entre enero del 2010 a enero del 2012 y con falta de coincidencia en la base de datos.
- Bloques de parafina de tejido placentario procedentes de gestantes con embarazo normal cuyo parto se realizó en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca entre enero del 2010 a enero del 2012 y con falta de coincidencia en la base de datos.

El periodo de referencia del estudio para recopilación de muestras fue de dos años, a partir del inicio en enero del 2010 a enero del 2012.

3.4. Diseño del estudio

Este trabajo fue de tipo observacional, transversal y prospectivo. Tipos de datos: Se analizaron variables cuantitativas y cualitativas.

3.5. Tamaño de la muestra y características principales

Inicialmente se seleccionaron 87 casos de placentas; 21 con preeclampsia de término, 44 con preeclampsia pretérmino y 44 placentas normales sin patología subyacente. Se descartaron 34 bloques de parafina.

La muestra final estuvo formada por 318 bloques de parafina con tejido placentario procedente de partos atendidos en la Unidad de Medicina Fetal y que cumplían los criterios de inclusión previamente establecidos. Los bloques proceden de un total de 53 placentas.

En todas las gestaciones se realizó un seguimiento y las ecografías correspondientes en la UMF, estudio Doppler y control de variables clínicas.

De éstas, 38 placentas ($n=38$) correspondieron a mujeres con preeclampsia y 15 a gestaciones normales que se usaron como grupo control (Figura 17).

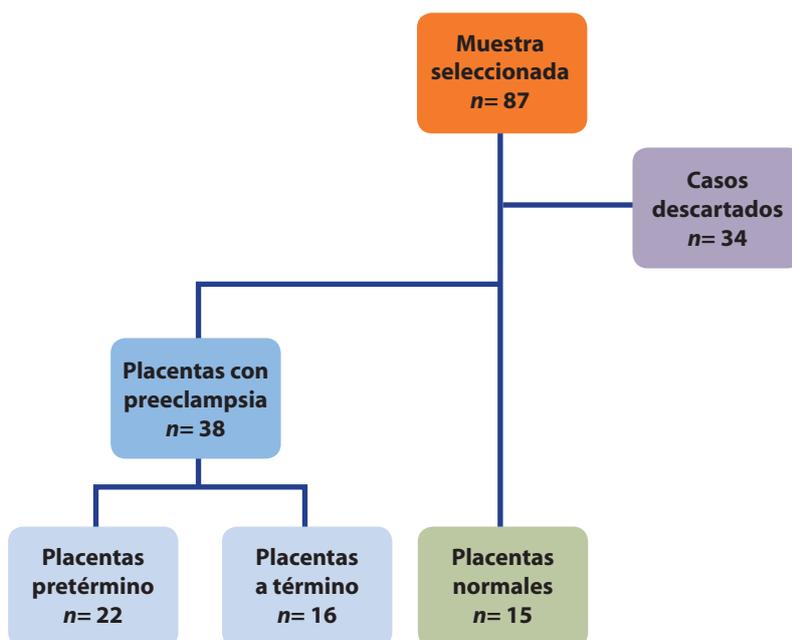


Figura 17. Muestra de pacientes y sus características según grupos de estudio.

- 22 de las placentas estudiadas correspondieron a una gestación con preeclampsia pretérmino (menos de 37 semanas al momento del parto).
- 16 placentas fueron producto de una gestación con preeclampsia a término.
- 15 placentas se emplearon como grupo control de pacientes de gestación normal sin patología clínica conocida y todas ellas producto de un embarazo a término.

3.6. Estudio ecográfico Doppler de arterias uterinas

La población de gestantes estudiadas fue evaluada ecográficamente en el momento de ingreso para estudio, mediante Doppler pulsado por vía transabdominal con un modelo General Electric VolusonE8 Expert con un transductor de 3,5 MHz. Se utilizó como Software de visualización el ViewPoint versión 5.6. El examen incluyó ambas arterias uterinas, la arteria umbilical y la arteria cerebral media. Esta evaluación fue realizada por un médico especialista en Ginecología y Obstetricia y registrada en una base de datos Excell. Se consideró una alta resistencia uterina cuando el índice de pulsatilidad de las arterias uterinas fue mayor del percentil 95, para lo cual se emplearon tablas de referencia para valores de acuerdo a edad gestacional (Tabla 3).

3.7. Estudio histopatológico de las placentas

Las placentas fueron examinadas macroscópicamente por un médico especialista en Ginecología y Obstetricia y posteriormente incluidas en formaldehído al 10% para su correcta fijación. Posteriormente se realizó el lavado y la deshidratación del tejido e inclusión en parafina.

Procesamiento de bloques de parafina: Una vez obtenidos los bloques de parafina, en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca se realizaron cortes representativos de cada una de las placentas, realizándose 6 secciones de cada caso con secciones en microtomo Thermo Scientific Microm HM 340E de Thermo Fisher Scientific Alemania, a 5 micras (Figura 18).

Se colocaron las secciones a 45 grados en Histo Bath HIS-2 (Kunz Instruments), para un adecuado posicionamiento de las secciones efectuadas en el microtomo, colocándose secciones sin teñir en portaobjetos (cristales) Dako Flex para inmunohistoquímica código de referencia K8020.

Edad gestacional (sem)	Percentiles		
	5 th	50 th	95 th
11	1,18	1,79	2,70
12	1,11	1,68	2,53
13	1,05	1,58	2,38
14	0,99	1,49	2,24
15	0,94	1,41	2,11
16	0,89	1,33	1,99
17	0,85	1,27	1,88
18	0,81	1,20	1,79
19	0,78	1,15	1,70
20	0,74	1,10	1,61
21	0,71	1,05	1,54
22	0,69	1,00	1,47
23	0,66	0,96	1,41
24	0,64	0,93	1,35
25	0,62	0,89	1,30
26	0,60	0,86	1,25
27	0,58	0,84	1,21
28	0,56	0,81	1,17
29	0,55	0,79	1,13
30	0,54	0,77	1,10
31	0,52	0,75	1,06
32	0,51	0,73	1,04
33	0,50	0,71	1,01
34	0,50	0,70	0,99
35	0,49	0,69	0,97
36	0,48	0,68	0,95
37	0,48	0,67	0,94
38	0,47	0,67	0,92
39	0,47	0,66	0,91
40	0,47	0,65	0,90
41	0,47	0,65	0,89

Tabla 3. Valores de referencia del índice de pulsatilidad (IP) de las arterias uterinas según edad gestacional. Extraído de Gómez, O (2008).

Secciones histológicas teñidas con hematoxilina y eosina: Posteriormente se efectuó la tinción del material tisular con los colorantes básicos hematoxilina y eosina (H&E) para conferir contraste adecuado y lograr una visualización óptima. La preparación histológica con hematoxilina



Figura 18. Microtomo Thermo Scientific e HistoBath en el que se realizaron las secciones histológicas sin teñir.

y eosina es fundamental e indispensable en el estudio de la Anatomía Patológica. Existen diversos tipos de tinciones, pero esta continua siendo la más sencilla y barata de realizar. Además permite una visualización óptima del núcleo y citoplasma gracias al contraste que se produce entre ambos colorantes. La calidad de la tinción con hematoxilina y eosina depende de muchos factores, entre ellos una fijación adecuada en formaldehído.

En la actualidad y dado el volumen de muestras que se manejan en los grandes centros hospitalarios, la tinción se realiza de forma automatizada, como la gran mayoría de técnicas complementarias en la especialidad de Anatomía Patológica. Este paso se elaboró mediante teñidor automático he incluye desparafinación, hidratación, tinción, deshidratación y montaje (Dako Coverstainer Ref:

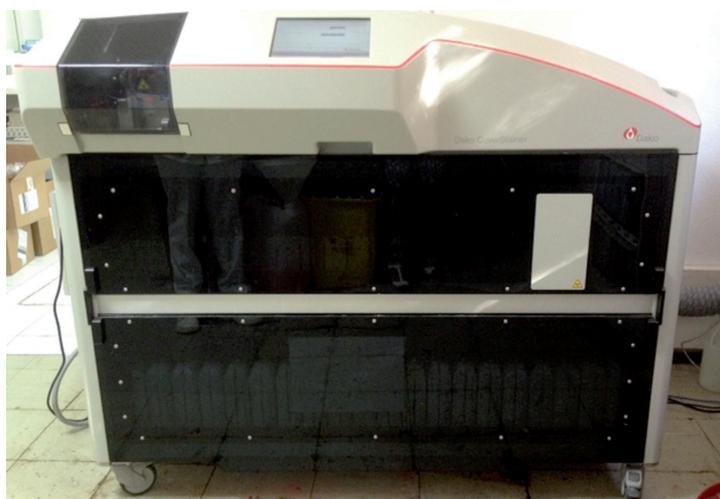


Figura 19. Teñidor automático Dako Coverstainer.

CS100). (Figura 19). Colocación de los portaobjetos (10 por rack y 4 rack simultáneamente hasta un total de 12 rack con un máximo de 240 portaobjetos) (Figura 20). El procedimiento automatizado y fungibles se describen en la tabla 4 y 5.



Figura 20. Carril de tinción obtenido del teñidor automático Dako Coverstainer con laminillas de cristal con secciones histológicas teñidas con hematoxilina y eosina.

Reactivos	Tiempo (en minutos)
Cámara de calefacción	15m.
Xyleno	5 m
Alcohol 100°	5 m.
Alcohol 96°	5m.
Agua	5m.
Hematoxilina	5 m.
Agua	2m.
Eosina	3m.
Buffer	2m.
Alcohol 96°	5m.
Alcohol 100°	5m.
Xyleno	5m.
Montaje	1m.
Secado	7m.

Tabla 4. Secuencia de eventos llevada a cabo por el teñidor automático Dako Coverstainer con resultado final de preparaciones histológicas con Hematoxilina y eosina.

Reactivo	Marca y referencia
Hematoxilina	Dako CS700
Eosina	Dako CS701
BluingBuffer	Dako CS702
Xyleno	VWR 28975.360
Alcohol 100°	VWR 83813.360
Alcohol 96°	Cidas 354052
Portaobjetos	Dako K8020
Cubreobjetos	Dako CS704
Medio de montaje	Dako CS705

Tabla 5. Material fungible y reactivos utilizados para la tinción con hematoxilina y eosina.

Los colorantes empleados fueron:

- **Hematoxilina:** Dako Ref: CS700. Es un reactivo listo para su uso en un equipo Dako CoverStainer. Este colorante de origen vegetal se obtiene del árbol tropical *Haematoxylon campechianum*, procedente de la Península de Yucatán, México. Es una solución acuosa diseñada para la tinción primaria de núcleos (azul) en cortes de tejidos fijados con formol e incluidos en parafina, cortes congelados y preparaciones de células.

- **Eosina:** Dako Ref: CS701. La eosina está diseñada para la tinción primaria del citoplasma (rojo) en cortes de tejidos fijados con formol e incluidos en parafina, cortes congelados y preparaciones de células. La Eosina es un colorante artificial de tipo ácido, por lo cual tiñe sustancias básicas a las que se denomina eosinófilas. Se utiliza como colorante de fondo o de contraste en unión con los colorantes de núcleos como la hematoxilina.

Número de secciones histológicas: En primer lugar corroboramos que las preparaciones histológicas mostraran una coloración adecuada y una tinción de contraste óptima (Figura 21). El número final de cristales teñidos con hematoxilina y eosina para examen histopatológico fue de 318. Se examinaron la totalidad de preparaciones teñidas con hematoxilina y eosina a ciegas sin conocimiento previo de datos clínicos. Consideramos como corte histológico adecuado aquel que incluyera una sección completa de la placenta desde la superficie fetal o placa coriónica, hasta la decidua basal o superficie materna para una mejor evaluación de las características pla-



Figura 21. Preparación o corte histológico de una placenta teñida con hematoxilina y eosina. Se puede apreciar que el corte es completo incluyendo superficie fetal y materna (decidua basal).

centarias. Descartamos las preparaciones histológicas que no mostraron ambas superficies.

Microscopio óptico: Para la visualización de las preparaciones histológicas tanto de hematoxilina y eosina, como de inmunohistoquímica se utilizó un microscopio óptico Olympus BX41.

Breve introducción a la inmunohistoquímica

La inmunohistoquímica es la aplicación de principios inmunológicos y técnicas para demostrar moléculas en células y tejidos. El método original concebido por Coons consistió en marcar con una sonda fluorescente un anticuerpo generado en conejos contra un antígeno en particular, y detectarlo en secciones de tejido examinadas con microscopio de fluorescencia posterior a la incubación. La técnica ha evolucionado y mejorado a través de los años y actualmente constituye una herramienta vital para el ejercicio de la Anatomía Patológica. Existen diversas técnicas de detección inmunohistoquímica, la más utilizada es el método basado en polímeros y la técnica inmunoenzimática de biotina-avidina, en este procedimiento la alta afinidad de la avidina por la biotina, es usada para unir la peroxidasa al anticuerpo primario. Se pueden emplear anticuerpos monoclonales o policlonales.

El número de antígenos que han sido detectados con inmunohistoquímica es muy grande y sigue creciendo. Teóricamente cualquier sustancia que es antigénica y cuya antigenicidad es al menos parcialmente retenida en secciones de tejido, puede ser demostrada por medio de esta técnica. Con

el advenimiento de la tecnología monoclonal están disponibles un gran número de anticuerpos y existen múltiples laboratorios a nivel mundial que cada día hacen esta oferta sea más amplia. En términos generales la técnica se basa en aplicar al tejido o muestra en estudio, el anticuerpo contra el antígeno que se desea detectar. Posteriormente, este anticuerpo específico es a su vez usado como antígeno y marcado con un segundo anticuerpo inespecífico, que se halla unido a un sistema molecular que puede ser detectado mediante una técnica de coloración. El marcaje con colorante del tejido puede visualizarse en el microscopio usando diferentes enzimas como la peroxidasa que confieren coloración a las células que poseen los antígenos marcados, y que dependiendo del cromógeno empleado pueden observarse de color marrón o rojo.

La inmunohistoquímica se emplea de forma más común en cortes histológicos de tejidos procesados con las técnicas de rutina, es decir, emplea cortes obtenidos de bloques de parafina que previamente fueron fijados en formaldehído y procesados de la forma habitual en cualquier laboratorio de Anatomía Patológica. Además se puede realizar en tejido congelado sin fijación previa en formaldehido. Aunque es un método complementario, la inmunohistoquímica se ha convertido es indispensable para el trabajo diario del anatomopatólogo, ya es una técnica muy versátil, lo que se pone de manifiesto al poder emplearse no solo en preparaciones histológicas, sino también en especímenes citológicos, tales como líquidos obtenidos de punción con aguja fina y citología exfoliativa. Aunque continua siendo un método costoso, en los grandes centros hospitalarios se ha conseguido

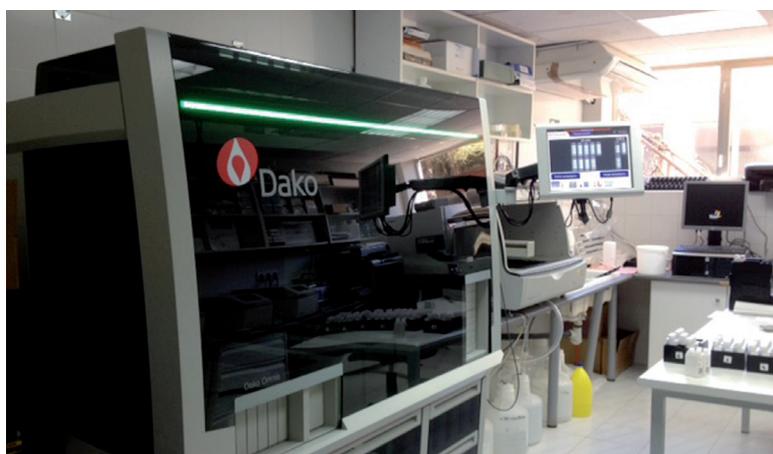


Figura 22. Sistema automatizado para inmunohistoquímica Envision Plus en teñidor automático Dako Omnis en el que se realizó la tinción de inmunohistoquímica para p53.



Figura 23. Autostainer Link 48 de Dako en el que se realizó la inmunohistoquímica para p21.

optimizar el procedimiento con el uso de máquinas automatizadas que realizan este procedimiento que en su día era realizado de forma manual en su totalidad.

Procesamiento de las muestras para inmunohistoquímica: Se realizaron cortes sin teñir del bloque seleccionado de cada caso, para la realización de técnicas de inmunohistoquímica, con sistema de detección Envision Plus en teñidor automático Dako Omnis para la p53, tras recuperación antigénica con tampón citrato. Para la realización de p21 se empleó el Autostainer Link 48 de Dako (Figura 22 y figura 23).

Anticuerpos empleados para inmunohistoquímica:

- p53: Se utilizó el anticuerpo monoclonal de ratón anti-proteína p53, Clone DO-7 con N° de catálogo M 7001 de Dako.
- p21: Se utilizó el anticuerpo monoclonal de ratón anti-proteína p21, Clone DO-7 con N° de catálogo SX118 de Dako.

Número de preparaciones de inmunohistoquímica y optimización de recursos:

Fue seleccionada una de las 6 secciones histológicas más representativas de cada caso (de cada placenta), a la que se realizó inmunohistoquímica para p53 y p21. Se realizaron 52 preparaciones dobles de inmunohistoquímica y 4 adicionales (56 cristales en total).

En total se examinaron 106 secciones o cortes histológicos de placentas, 53 teñidas con anticuerpos para p53 y 53 teñidas para anticuerpos contra p21. El empleo de preparaciones dobles de

IHQ se realizó para reducir costos debido al elevado precio del kit de relevado de peroxidasa. De lo contrario hubiera sido necesario realizar 106 preparaciones de inmunohistoquímica individuales en lugar de las 56 realizadas. Un kit de peroxidasa puede ser empleado para 400 preparaciones individuales de inmunohistoquímica y tiene un costo muy elevado superior a los 5000 euros. Un método alternativo empleado actualmente para optimizar los reactivos de inmunohistoquímica en estudios de investigación, tal como el microarray tisular, aunque no se utilizó debido a que se consideró más importante visualizar una mayor extensión histopatológica, pues aunque el microarray tisular permite examinar múltiples muestras en un mismo cristal, el tamaño de éstas es muy pequeño, ya que consisten en cilindros de escaso diámetro y por lo tanto la extensión de tejido para valoración es menor. Ver ejemplo de preparación final de inmunohistoquímica (Figura 24).



Figura 24. Preparación de inmunohistoquímica.

Valoración de la inmunohistoquímica

La expresión de marcadores de inmunohistoquímica p53 y p21 se valoró de la siguiente manera:

Intensidad: La intensidad de la tinción fue valorada como: 0 (ausencia de tinción), 1 (débil), 2 (moderada) y 3 (intensidad marcada). La p53 y p21 muestran expresión o positividad nuclear. La tinción citoplásmica o de membrana se considera no válida o negativa. Para lo anterior se valoró la totalidad de la preparación de inmunohistoquímica de cada caso (Figura 25).

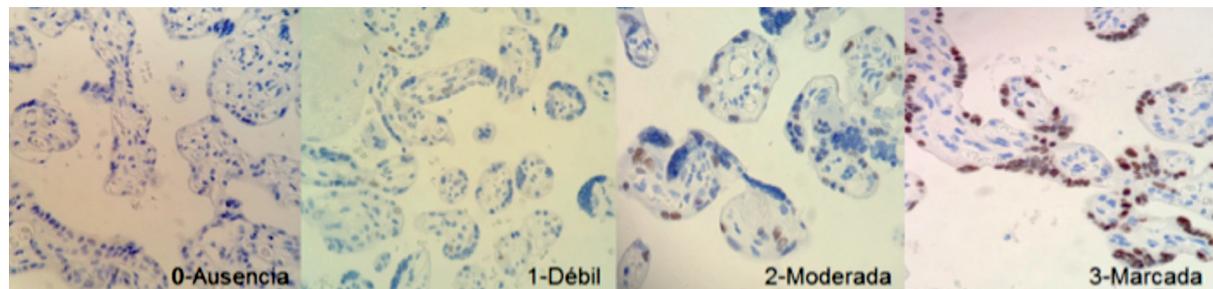


Figura 25. Escala empleada para valoración de la intensidad de la expresión de p53 y p21. Ausencia (0), débil(1), moderada (2) y marcada (3).

Porcentaje de extensión de la expresión: Realizamos un análisis semicuantitativo de los cristales, interpretándose el porcentaje de células positivas de acuerdo a los siguientes parámetros establecidos por Fulop *et al* (1998), valorando la totalidad de la sección histológica preparada con inmunohistoquímica (Tabla 6).

Se consideró de acuerdo a lo expresado anteriormente:

Escala	Porcentaje de expresión
0	Ausencia de inmunoexpresión de un marcador
1	Presencia de positividad en menos del 10% de todas las células
2	Presencia de positividad entre el 10 y el 50%
3	Presencia de positividad en más del 50% del total de células.

Tabla 6. Porcentaje de expresión de inmunohistoquímica.

En este estudio se incluyeron los siguientes tres tipos de variables (Tabla 7).

Variables del estudio
1) Maternas y del recién nacido.
2) Placentarias de tipo histopatológico con hematoxilina y eosina.
3) Placentarias de tipo histopatológico con inmunohistoquímica

Tabla 7. Tipos de variables.

Los datos maternos recopilados fueron:

- **Tipo de embarazo:** Presencia o ausencia de preeclampsia.

- **Sexo fetal:** Expresado como mujer o varón.

- **Peso del recién nacido:** Expresado en gramos.

- **Percentil del peso fetal:** Expresado en números.

- **Presencia de crecimiento intrauterino restringido:** El crecimiento intrauterino restringido se define como la incapacidad del feto para alcanzar su potencial esperado de crecimiento cuando el peso fetal estimado es inferior al percentil 10 para la edad gestacional con afectación del doppler de la arteria umbilical, de la arteria cerebral media y/ o arteria uterina.

- **Ecografía Doppler fetal:** Expresada como normal y sugestivo de hipoxia fetal. Consideramos un Doppler patológico a los que mostraran aumento de resistencia umbilical, ausencia de diástole umbilical, redistribución cerebral y flujo reverso umbilical.

- **Destino recién nacido:** Expresado como ausencia de necesidad de cuidados (estancia directa con la madre), necesidad de cuidados en neonatos o ingreso en unidad de cuidados intensivos.

- **Presencia de maduración pulmonar fetal:** Expresado como presencia o ausencia de maduración.

- **Edad de gestación:** Expresado en semanas

- **Edad de la madre:** Expresado en años.

- **Índice de masa corporal de la madre:** El índice de masa corporal (IMC) es la medida de asociación entre la masa y la talla de un individuo ideada por el estadístico belga Adolphe Quetelet, por lo que también se conoce como índice de Quetelet. Se realiza dividiendo el peso en kilogramos entre la estatura del

Peso bajo	IMC menos de 18.5
Peso Normal	IMC de 18.5 a 24.9
Sobrepeso	IMC de 25 a 29.9
Obesidad	IMC 30 o mayor
Obesidad Mórbida	IMC 40 o mayor

Tabla 8. Índice de masa corporal (IMC).

sujeto. Se utiliza como uno de los recursos para evaluar el estado nutricional de acuerdo con los valores propuestos por la Organización Mundial de la Salud (Tabla 8). Se calcula según la expresión matemática:

- **Tabaquismo:** Expresado como fumadora, no fumadora o exfumadora.
- **Nuliparidad:** Expresado como ausencia o presencia del primer embarazo.
- **Índice de pulsatilidad de las uterinas:** Este parámetro fue evaluado en relación a la edad gestacional y basándose en valores de referencia. Ver Tabla.
- **Altas resistencias uterinas:** Se consideró alta resistencia a la IP uterina por encima del percentil 95 de acuerdo a la edad gestacional. Tabla.
- **Tensión arterial sistólica pico:** Expresado en mm de Hg como la cifra máxima de tensión en un determinado momento.
- **Tensión arterial diastólica pico:** Expresado en mm de Hg como la cifra máxima de tensión en un determinado momento.
- **Tratamiento farmacológico:** Expresado como ausencia de tratamiento, tratamiento oral ó uso de tratamiento intravenoso.
- **Gravedad madre SEGO:** Cuando la enfermedad cumple alguna de las siguientes condiciones: Tensión arterial sistólica de 160 mmHg o mayor, tensión arterial diastólica de 110 mmHg o mayor, proteinuria de 2 gr o más en 24 horas, creatinina sérica mayor de 1,1 mg/dl, trombocitopenia con menos de 100.000 plaquetas/ml, enzimas hepáticas elevadas, dolor epigástrico y alteraciones que indican afectación del sistema nervioso central como cefalea, fotopsias, escotomas y amaurosis, así como edema pulmonar.
- **Gravedad madre ACOG:** Mismos criterios que la SEGO.
- **Preeclampsia precoz:** Indicado como presencia o ausencia de PE que requiere de parto antes de las 34 semanas de gestación.
- **Modo de inicio de parto:** Espontáneo, inducción con prostaglandinas vaginales, inducción oxitocina ó cesárea electiva.
- **Fin de parto:** Expresado como eutócico, vacuoextracción, espátulas, fórceps, cesárea urgente ó cesárea electiva.

Variables placentarias de tipo histopatológico con hematoxilina y eosina.

Estas variables son descritas minuciosamente en el apartado de la introducción. Las variables histopatológicas fueron las siguientes:

- **Presencia de daño vascular o arteriopatía decidual.**
- **Grado de daño vascular.**
- **Daño vascular en decidua basal.**
- **Daño vascular en vellosidades.**
- **Daño vascular en capilares.**
- **Daño vascular vasos de calibre medio.**
- **Reducción de luz por hipertrofia de capa muscular.**
- **Macrófagos espumosos en pared arteriolar (Aterosis aguda).**
- **Necrosis fibrinoide.**
- **Otro tipo de daño endotelial.**
- **Grado de otro tipo de daño vascular.**
- **Presencia de infartos.**
- **Grado de afectación de infartos.**
- **Localización de infarto.**
- **Número de infartos.**
- **Evolución de infartos.**
- **Presencia de fibrina.**
- **Grado de extensión de depósito de fibrina.**
- **Presencia de trombosis.**
- **Localización de trombosis.**
- **Grado de trombosis.**
- **Presencia de nodos sincitiales.**
- **Grado de nodos sincitiales.**
- **Presencia de hipervascularización vellositaria.**

- **Grado de hipervascularización vellositaria.**
- **Presencia de corangiosis (más de 10 vasos en 10 vellosidades en al menos tres zonas examinadas).**
 - **Grado de corangiosis.**
 - **Presencia de células de Hofbauer.**
 - **Presencia de inflamación.**
 - **Grado de inflamación.**
 - **Localización de inflamación.**
 - **Características del estroma.**
 - **Grado de cambios estromales.**
 - **Presencia de calcificaciones.**
 - **Localización de calcificaciones.**
 - **Extensión de calcificaciones.**
 - **Presencia de apoptosis con hematoxilina y eosina.**
 - **Grado de apoptosis con hematoxilina y eosina.**
 - **Localización de apoptosis con hematoxilina y eosina.**
 - **Alteración de maduración en placentas pretérmino.**
 - **Presencia de brotes sincitiales.**
 - **Grado de extensión de brotes sincitiales.**
 - **Presencia de “puentes” sincitiales.**
 - **Grado de extensión de puentes sincitiales.**
 - **Presencia de extravasación vellositaria de eritrocitos.**
 - **Daño en vasos fetales de placa coriónica.**
 - **Inflamación en vasos fetales de placa coriónica.**
 - **Obliteración de capilares vellositarios.**
 - **Grado de obliteración de capilares vellositarios.**
 - **Presencia de signos de placentación deficiente.**

Variables placentarias de tipo histopatológico mediante técnicas de inmunohistoquímica.

Como se mencionó previamente se valoró la intensidad de expresión y el porcentaje de la distribución de la expresión para p53 y p21. Los elementos placentarios concretos en los que se evaluó esta expresión fueron los siguientes (Tabla 9).

Elementos histológicos placentarios valorados con p53 y p21
Citotrofoblasto
Sincitiotrofoblasto
Células estromales de las vellosidades
Células estromales no vellositarias
Vasos sanguíneos
Nodos sincitiales
Decidua

Tabla 9. Elementos histológicos placentarios examinados mediante p53 y p21.

Aspectos éticos y legales: Se realizó el consentimiento informado mediante un documento reglado, con explicación detallada para las pacientes y estos documentos así como un resumen fue remitido para evaluación al comité de bioética de este Hospital.

Análisis estadístico: La información obtenida del examen histopatológico se correlacionó con los datos clínicos aportados en una base de datos Excel. Los bloques de parafina fueron seleccionados de un registro escrito. Los datos fueron registrados inicialmente en una base de datos del programa Excel 2008 de Microsoft Office 2008. Para el manejo estadístico se empleó el programa de estadística SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) v.19. o (IBM-SPSS Inc., Chicago, IL). Se empleó una estadística descriptiva. Se calcularon las frecuencias y los porcentajes para las variables cualitativas, y las medias, desviaciones estándar, o típicas, valores máximos y mínimos para las mediciones cuantitativas. La realización de estos análisis se hizo de toda la muestra y también diferenciando por grupos de estudio. Para las comparaciones entre variables se utilizó el análisis bivariante. Se compararon las puntuaciones de cada variable dependiente con las variables independientes mediante métodos estadísticos paramétricos, y no paramétricos cuando no se cumplían los criterios de aplicación de dichos análisis. Todos

los resultados se consideraron significativos estadísticamente a $p < 0,05$. Para la comparación de medias de los diferentes parámetros se empleó la prueba T de Student. Las comparaciones de casos de preeclampsia y casos control para las variables se realizó mediante la prueba de Chi-cuadrado.

4. Resultados

CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA Y EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA
DE LOS MARCADORES p53 Y p21 EN EL TROFOBLASTO PLACENTARIO
EN PREECLAMPSIA

4.1. Descripción de la muestra

Estudiamos una muestra total de 53 placentas, de los que 15 correspondieron a gestaciones normales y 38 a gestaciones con presencia de preeclampsia lo cual representó un 28,3% y 71,7% del total de casos respectivamente (Tabla 10). De las pacientes con preeclampsia, 16 correspondieron a embarazos de término (PT) y 22 a pretérmino (PPT), correspondiendo al 30,2% y 41,5% del total respectivamente (Tabla 11).

Tipo de embarazo	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Normal	15	28,3	28,3	28,3
Preeclampsia	38	71,7	71,7	100,0
Total	53	100,0	100,0	

Tabla 10. Normal y preeclampsia.

Tipo de embarazo	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Normal	15	28,3	28,3	69,8
Preeclampsia a término	16	30,2	30,2	100,0
Preeclampsia pretérmino	22	41,5	41,5	41,5
Total	53	100,0	100,0	

Tabla 11. Preeclampsia a término y preeclampsia pretérmino.

4.1.1. Características de la muestra

A continuación se detallan las distintas variables analizadas en este estudio en el grupo control de embarazo normal y el grupo con preeclampsia: variables clínicas relacionadas con la madre, signos ecográficos y características del parto y recién nacido.

4.2. Variable clínicas en embarazo normal y preeclampsia

4.2.1. Variables maternas en embarazo normal y preeclampsia

Con respecto a la variable edad materna, la media encontrada en el grupo de casos estudiados fue de 32,06 años (SD= 5,304), con una edad mínima de 17 años y máxima de 43 años (n= 53).

En el grupo control de gestaciones normales la población de mujeres estudiadas mostró una edad media de 32,80 años (SD= 4,84) y una media de 31,76 años (SD= 5,51) en el grupo de preeclampsia, sin diferencias significativas entre ambos grupos ($p= 0,685$). La media de índice de masa corporal mostró que en la población de mujeres estudiadas de ambos grupos, predominaba el sobrepeso. No se observó diferencia en el índice de masa corporal entre los dos grupos, con una media de 26,08 (SD= 4,21) en el grupo control y de 26,49 (SD= 4,69) en el de preeclampsia. Por otro lado, se observó mayor nuliparidad en el grupo de preeclampsia (70,3% en preeclampsia y 53,3% en el grupo control $p= 0,199$).

Se encontraron mayor número de fumadoras y exfumadoras en el grupo con preeclampsia que en el grupo control. En el grupo de preeclampsia se encontró que el 13,5% de las mujeres con preeclampsia eran fumadoras versus el 6,7% del grupo control ($p= 0,589$). Además se determinó que 33,3% de mujeres del grupo control y 21,6% de las mujeres con preeclampsia eran exfumadoras.

En cuanto a las cifras de tensión arterial el grupo con preeclampsia mostró una media de tensión arterial sistólica (TAS) y tensión arterial diastólica (TAD) tanto al ingreso como la TAS Y TAD pico, mayor que el grupo control, con una media de TAS al ingreso de 155,43 mmHg (SD= 13,7) versus 117 mmHg (SD= 10,0) en el grupo de preeclampsia y TAD de 96,84 mmHg (SD= 10,77) en preeclampsia y 63,7 mmHg (SD= 7,94) en el control, respectivamente ($p= 0,001$). Las mujeres con preeclampsia requirieron tratamiento en el 89,1% de los casos, únicamente en el 10,8% de estas no fue necesario administrar tratamiento. El 48,6% necesitó solamente tratamiento vía oral y en el 40,5% se utilizó además medicación intravenosa además del medicamento vía oral.

En los casos con preeclampsia 70,3% ($n= 26$) tuvieron criterios de gravedad de la Sociedad española de Ginecología y obstetricia (SEGO) y del Colegio americano de Ginecología y Obstetricia (ACOG), y 29,7% no mostraron signos de gravedad ($n= 11$) lo que fue estadísticamente significativo ($p= 0,0001$). Por último es importante mencionar que del total de 38 casos de preeclampsia estudiados, el 40,5% ($n= 15$) se catalogaron como preeclampsia precoz. Las variables clínicas maternas se presentan de forma detallada en la tabla 12.

Variables maternas	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Edad media <i>media</i> ± de	32,80 ± 4,84	31,76 ± 5,51	0,685 *
Nuliparidad n (%)			0,199**
Nulíparas	8 (53,3)	27 (70,3)	
No nulíparas	7 (46,7)	11 (29,7)	
IMC <i>media</i> ± de	26,08 ± 4,21	26,49 ± 4,69	0,0001*
Tabaquismo n (%)			0,589**
Fumadora	1 (6,7)	5 (13,5)	
No fumadora	9 (60)	25 (64,9)	
Exfumadora	5 (33,3)	8 (21,6)	
TAS ingreso <i>media</i> ± de	117 ± 10,0	155,43 ± 13,7	0,0001*
TAD ingreso <i>media</i> ± de	63,7 ± 7,94	96,84 ± 10,77	0,0001*
TAS pico <i>media</i> ± de	117,0 ± 10,0	171,35 ± 14,90	0,0001*
TAD pico <i>media</i> ± de	63,7 ± 7,945	101,24 ± 10,36	0,0001*
Tratamiento n (%)			0,0001*
Ausencia de tratamiento	15 (100)	5 (10,8)	
Tratamiento oral	0 (0)	18 (48,6)	
Tratamiento IV/ oral	0 (0)	15 (40,5)	
Gravedad SEGO n (%)			0,0001*
No gravedad SEGO	15 (100)	11 (29,7)	
Con gravedad SEGO	0 (0)	26 (70,3)	
Gravedad ACOG n (%)			0,0001*
No gravedad ACOG	15 (100)	11 (29,7)	
Con gravedad ACOG	0 (0)	26 (70,3)	
Preeclampsia precoz n (%)			0,003*
Ausencia de preeclampsia precoz	15 (100)	23 (59,5)	
Presencia de preeclampsia precoz	0 (0)	15 (40,5)	

*U de Mann-Whitney **Chi cuadrado

Tabla 12. Variables clínicas maternas en embarazo normal y preeclampsia. IMC: índice de masa corporal. TAS: tensión arterial sistólica. TAD: tensión arterial diastólica. SEGO: Sociedad española de Ginecología y obstetricia. ACOG: Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología.

4.2.2. Variables ecográficas en embarazo normal y preeclampsia

El índice de pulsatilidad de las arterias uterinas (IP), uno de los parámetros más relevantes en la evaluación del estudio ecográfico en la gestación mostró diferencias significativas entre ambos grupos. La media de índice de pulsatilidad de las arterias uterinas en la preeclampsia fue de 1,32 (SD= 0,422) versus 0,8487 (SD=,207) en los embarazos normales siendo esta diferencia estadísticamente significativa (p= 0,001). El 89,47% de los casos con preeclampsia mostraron altas resistencias de las

arterias uterinas y un 10,53% tuvieron bajas resistencias ($p= 0,003$). Ninguno de los casos controles mostró evidencia de altas resistencias uterinas.

En 9 casos de preeclampsia (21,6%) se encontró evidencia de Doppler fetal patológico indicativo de hipoxia fetal, con alteraciones tales como ausencia de onda en ductus venoso, ausencia de diástole umbilical, redistribución cerebral y flujo reverso umbilical. El resto de casos de preeclampsia (78,4%) no tuvieron alteraciones en el Doppler. Las variables ecográficas se detallan en la tabla 13.

Variables ecográficas	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Media IP uterinas <i>media ± de</i>	8.487 ± ,207	1,32 ± 0,422	0,001*
Resistencias uterinas n (%)			0,003**
Bajas resistencias uterinas	15 (100)	4 (10,53)	
Altas resistencias uterinas	0 (0)	34 (89,47)	
Doppler fetal n (%)			0,429**
Normal	15 (100)	29 (78,4)	
Ausencia de onda en ductus venoso	0 (0)	3 (8,1)	
Ausencia Diástole umbilical	0 (0)	4 (8,1)	
Redistribución cerebral	0 (0)	1 (2,7)	
Flujo reverso umbilical	0 (0)	1 (2,7)	

*U de Mann-Whitney **Chi cuadrado

Tabla 13. Variables ecográficas en embarazo normal y preeclampsia. IP: Índice de pulsatilidad de las arterias uterinas.

4.2.3. Variables del parto y recién nacido en embarazo normal y preeclampsia

La edad gestacional media en el momento del parto en las gestaciones normales fue de 39,33 semanas ($SD= 1,34$). El grupo con preeclampsia evidenció una media de 34,1 semanas ($SD= 4,30$) siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p= 0,001$). La mayoría de los recién nacidos del grupo con preeclampsia fueron varones (62,2%). En el grupo control se encontró ligero predominio de mujeres (53,3% mujeres versus 46,7% varones). El peso de los recién nacidos en el grupo control tuvo una media de 3617 gramos ($SD= 557,50$), un peso adecuado para una gestación a término, pero en el grupo con preeclampsia la media fue de 2133,11 gramos ($SD= 976,1$). El menor peso de los recién nacidos de madres con preeclampsia, cobra relevancia debido a la alta presencia del crecimiento intrauterino restringido (CIR) encontrado en este mismo grupo, pues el 50% ($n= 19$) de los casos con preeclampsia tuvieron criterios de CIR ($p= 0,0001$). No se observó CIR en el grupo de mujeres sin enfermedad, así como ninguno

de los recién nacidos de mujeres del grupo control necesitaron de cuidados especiales. El 27% de los recién nacidos de madres con preeclampsia fueron trasladados a la UCI, el 24,3% al área de neonatos, y el 48,6% permanecieron con la madre al no presentar alteración en la adaptación tras el nacimiento.

Otro dato analizado fue la madurez pulmonar. En el grupo con preeclampsia la inmadurez pulmonar se presentó en el 37,8% (n= 15) de los recién nacidos. Ver tabla 14 con resumen de variables del parto y recién nacido.

Variables del parto y recién nacido	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Edad gestacional (semanas) media ± de	39,33 ± 1,34	34,1 ± 4,30	0,0001*
Sexo n (%)			0,306 **
Varón	7 (46,7)	24 (62,2)	
Mujer	8 (53,3)	14 (37,8)	
Peso (gramos) media ± de	3.617 ± 557,507	2.133,11 ± 976,1	0,0001*
Percentil peso recién nacido media ± de	66,27 ± 29,04	23,27 ± 29,52	0,0001*
Crecimiento intrauterino restringido (CIR) n (%)			
Ausencia CIR	15 (100)	19 (50)	0,0001**
Presencia CIR	0 (0)	19 (50)	
Destino recién nacido n (%)			0,002**
Estancia con madre (normal)	15 (100)	19 (48,6)	
Neonatos	0 (0)	9 (24,3)	
Unidad de cuidados intensivos	0 (0)	10 (27)	
Maduración pulmonar fetal n (%)			0,005**
Presencia de maduración	15 (100)	23 (63,2)	
Inmadurez pulmonar	0 (0)	15 (37,8)	
Inicio parto n (%)			0,011**
Espontáneo	3 (20)	0 (0)	
Inducción con prostaglandinas	3 (20)	22 (56,8)	
Inducción con oxitocina	1 (6,)	2 (5,4)	
Cesárea electiva	8 (53,3)	14 (37,8)	
Fin parto n (%)			0,051**
Eutócico	3 (20)	2 (5,4)	
Vacuo	3 (20)	3 (8,1)	
Fórceps	0 (0)	1 (2,7)	
Cesárea urgente	1 (6,7)	17 (45,9)	
Cesárea electiva	8 (53,3)	15 (37,8)	

*U de Mann-Whitney **Chi cuadrado

Tabla 14. Variables del parto y recién nacido en embarazo normal y preeclampsia.

4.3. Variables clínicas en preeclampsia pretérmino y a término

4.3.1. Variables clínicas maternas en preeclampsia pretérmino y a término

La edad media en el grupo pretérmino (PPT) fue de 31,95 años (SD 5,009) y de 31,73 (SD 6,245) en el grupo de preeclampsia a término (PT) sin que se encontrasen diferencias apreciables en este aspecto. La mayoría de los casos mostraron una asociación con nuliparidad en ambos grupos (16 casos SD= 72,7 en PPT y 11 casos SD= 68,8 en PT). La media de índice de masa corporal fue de 25,93 (SD= 2,98) en el grupo PPT y de 27,13 (SD= 6,305) en el grupo PT. No se encontraron diferencias significativas en el hábito tabáquico entre grupos. La media de la tensión arterial sistólica (TAS) y la tensión arterial diastólica (TAD) al ingreso fue mayor en el grupo de mujeres con parto pretérmino con una media de TAS de 158,14 mmHg (SD= 14,86) y media de TAD de 98,64 mmHg (SD= 12,81), encontrándose por el contrario una menor TAS y TAD media al ingreso en el grupo de mujeres con preeclampsia y embarazo a término con media de TAS de 152,63 mmHg (SD= 11,67) y TAD de 94,56 mmHg (SD= 7,624).

Aunque en las medias de TAD pico no hubo diferencias estadísticamente significativas entre las medias de TAS y TAD al ingreso y TAS y TAD pico, entre ambos grupos, estos fueron superiores en las mujeres del grupo con preeclampsia pretérmino.

La TAS media pico fue mayor en el grupo PPT en comparación con el grupo PT con media de TAS pico de 173,09 mmHg (SD= 14,61) en comparación con el grupo PT con media de TAS pico de 168,88 mmHg (SD= 14,93). El grupo de mujeres con preeclampsia pretérmino mostró una mayor necesidad de tratamiento intravenoso además del tratamiento oral con 12 casos (54,4%) y 3 casos en el grupo de término (18,8%), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p= 0,013$).

Según los criterios de gravedad de la SEGO y ACOG encontramos diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. Siendo mayor el porcentaje de gravedad en el grupo pretérmino en comparación con el de término (20 casos con 90,9% con criterios de gravedad y 7 casos con 43,8% sin criterios de gravedad), esto fue estadísticamente significativo ($p= 0,002$). Prácticamente todos los casos de preeclampsia en el grupo de embarazos pretérmino se diagnosticaron según criterios de preeclampsia precoz, es decir antes de la 34 semanas de gestación

(16 casos con 72,7%) en comparación con el grupo a término donde no se diagnosticó ningún caso. Ver tabla 15.

Variables maternas	PPT (n= 22)	PT (n= 16)	p
Edad media <i>media</i> ± de	31,95 ± 5,009	31,75 ± 6,245	0,929*
Nuliparidad n (%)			0,534*
Nulíparas	16 (72,7)	11 (68,8)	
No nulíparas	6 (27,3)	5 (31,3)	
IMC <i>media</i> ± de	25,93 ± 2,98	27,13 ± 6,305	0,813 *
Tabaquismo n (%)			0,985**
Fumadora	3 (13,6)	2 (12,5)	
No fumadora	14 (63,6)	10 (62,5)	
Exfumadora	5 (22,7)	4 (25,0)	
TAS ingreso <i>media</i> ± de	158,14 ± 14,86	152,63 ± 11,67	0,300*
TAD ingreso <i>media</i> ± de	98,64 ± 12,281	94,56 ± 7,624	0,201*
TAS pico <i>media</i> ± de	173,09 ± 14,61	168,88 ± 14,93	0,320*
TAD pico <i>media</i> ± de	101,50 ± 11,734	100,81 ± 8,043	0,929*
Tratamiento n (%)			0,013*
Ausencia de tratamiento	0 (0)	4 (25,0)	
Tratamiento oral	10 (45,5)	9 (56,3)	
Tratamiento IV/ oral	12 (54,5)	3 (18,8)	
Gravedad SEGO n (%)			0,002*
No gravedad SEGO	2 (9,1)	9 (56,3)	
Con gravedad SEGO	20 (90,9)	7 (43,8)	
Gravedad ACOG n (%)			0,002*
No gravedad ACOG	2 (9,1)	9 (56,3)	
Con gravedad ACOG	20 (90,9)	7 (43,8)	
Preeclampsia precoz n (%)			0,000*
Ausencia de preeclampsia precoz	6 (27,3)	16 (100)	
Presencia de preeclampsia precoz	16 (72,7)	0 (0)	

*U de Mann-Whitney **Chi -cuadrado de Pearson.

Tabla 15. Variables clínicas maternas en preeclampsia pretérmino (PPT) y preeclampsia a término (PT). IMC: índice de masa corporal. TAS: tensión arterial sistólica. TAD: tensión arterial diastólica. SEGO: Sociedad española de Ginecología y obstetricia. ACOG: Colegio americano de Obstetricia y Ginecología.

4.3.2. Variables ecográficas en preeclampsia pretérmino y a término

El índice medio de pulsatilidad de las arterias uterinas fue de 1,26 (SD= 0,37) en los casos de preeclampsia pretérmino (PPT), y de 1,39 (SD= 0,47) en el grupo de preeclampsia a término (PT). Se encontraron altas resistencias de la arteria uterina en el 72,7% de los casos de PPT y el 87,5% de

los casos de PT. En la mayoría de casos el Doppler fetal fue normal, encontrándose alteraciones en el 27,3% de los casos de PPT y en el 12,5% de los casos PT. El grupo PPT mostró mayor grado de alteraciones Doppler. No se identificaron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables ecográficas de ambos grupos (Tabla 16).

Variables ecográficas	PPT (n= 22)	PT (n= 16)	p
Media IP uterinas <i>media ± de</i>	1,26 ± 0,37	1,39 ± 0,47	0,344*
Resistencias uterinas n (%)			0,270**
Bajas resistencias uterinas	6 (27,3)	2 (12,5)	
Altas resistencias uterinas	16 (72,7)	14 (87,5)	
Doppler fetal n (%)			0,327**
Normal	16 (72,7)	14 (87,5)	
Ausencia de onda en ductus venoso	1 (4,5)	2 (12,5)	
Ausencia Diástole umbilical	3 (13,6)	0 (0)	
Redistribución cerebral	1 (4,5)	0 (0)	
Flujo reverso umbilical	1 (4,5)	0 (0)	

*U de Mann-Whitney **Chi cuadrado de Pearson.

Tabla 16. Variables ecográficas en preeclampsia pretérmino (PPT) y preeclampsia a término (PT). IP: Índice de pulsatilidad de las arterias uterinas.

4.3.3. Variables del parto y recién nacido en preeclampsia pretérmino y a término

La edad gestacional media al momento de parto fue menor en el grupo PPT que en el PT, con 31,41 semanas de gestación (SD= 3,528) y en el grupo PT de 37,94 semanas (SD= 0,929) siendo esta diferencia estadísticamente significativa (p= 0,000). La mayoría de recién nacidos fueron mujeres en el grupo PPT (54,5%) y varones en el grupo PT (81,3%). La media de peso fue significativamente menor en el grupo PPT con 1485 gramos (SD= 668,2) y 2984 gramos (SD= 546,5) en el grupo PT. La media de percentil fue 10,73 (SD= 21,26) en el grupo PPT y de 39,13 (SD= 31,51) en el grupo PT. Tanto en la media de peso en gramos como en la media de percentil se encontraron diferencias estadísticamente significativas (p= 0,000). Observamos crecimiento intrauterino restringido en el 72,7% de los casos de preeclampsia pretérmino y en 18,8% de los casos de preeclampsia a término siendo estadísticamente significativo (p= 0,001). Los recién nacidos de gestaciones de madres con preeclampsia pretérmino tuvieron un estancia en neonatos (40,9%), y en la

unidad de cuidados intensivos tuvieron estancia el 40,9% en comparación con los recién nacidos de preeclampsia a término (6,3% en neonatos) y (6,3% en la unidad de cuidados intensivos) ($p=0,000$). El 63,6% de los recién nacidos del grupo PPT tuvieron inmadurez pulmonar (63,6). La mayor parte de los embarazos de preeclampsia pretérmino finalizaron por medio de cesárea electiva (59,1%) y cesárea urgente (36,4%). En el grupo de preeclampsia a término la cesárea electiva fue de 6,3% y urgente en el 56,3% ($p=0,008$). Ver tabla 17.

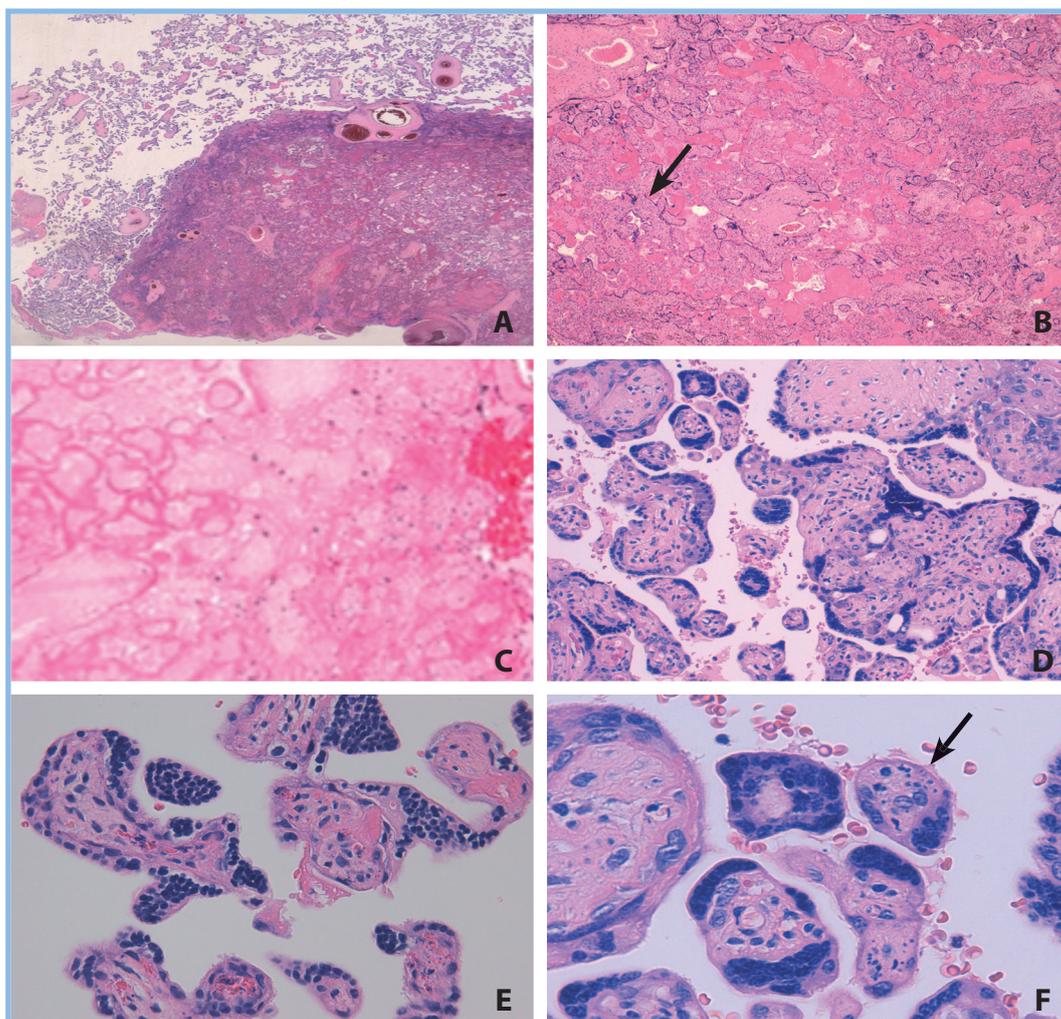
Variables del parto y recién nacido	PPT (n= 15)	PT (n= 38)	p
Edad gestacional (semanas) media \pm de	31,41 \pm 3,528	37,94 \pm 0,929	0,000*
Sexo n (%)			0,026 **
Varón	10 (45,5)	13 (81,3)	
Mujer	12 (54,5)	3 (18,8)	
Peso (gramos) media \pm de	1.485 \pm 668,2	2.984,69 \pm 546,5	0,000*
Percentil peso recién nacido media \pm de	10,73 \pm 21,26	39,13 \pm 31,51	0,000*
Crecimiento intrauterino restringido (CIR) n (%)			
Ausencia CIR	6 (27,3)	13 (81,3)	0,001**
Presencia CIR	16 (72,7)	3 (18,8)	
Destino recién nacido n (%)			0,000**
Estancia con madre (normal)	4 (18,2)	14 (87,5)	
Neonatos	9 (40,9)	1 (6,3)	
Unidad de cuidados intensivos	9 (40,9)	1 (6,3)	
Maduración pulmonar fetal n (%)			0,000**
Presencia de maduración	8 (36,4)	16 (100)	
Inmadurez pulmonar	14 (63,6)	0 (0)	
Inicio parto n (%)			0,001**
Espontáneo	0 (0)	0 (0)	
Inducción con prostaglandinas	7 (31,8)	15 (93,8)	
Inducción con oxitocina	2 (9,1)	0 (0)	
Cesárea electiva	13 (59,1)	1 (6,3)	
Fin parto n (%)			0,008**
Eutócico	0 (0)	2 (12,5)	
Vacuo	1 (4,5)	3 (18,8)	
Fórceps	0 (0)	1 (6,3)	
Cesárea urgente	8 (36,4)	9 (56,3)	
Cesárea electiva	13 (59,1)	1 (6,3)	

*U de Mann-Whitney **Chi cuadrado de Pearson.

Tabla 17. Variables del parto y recién nacido en preeclampsia pretérmino (PPT) y preeclampsia a término (PT).

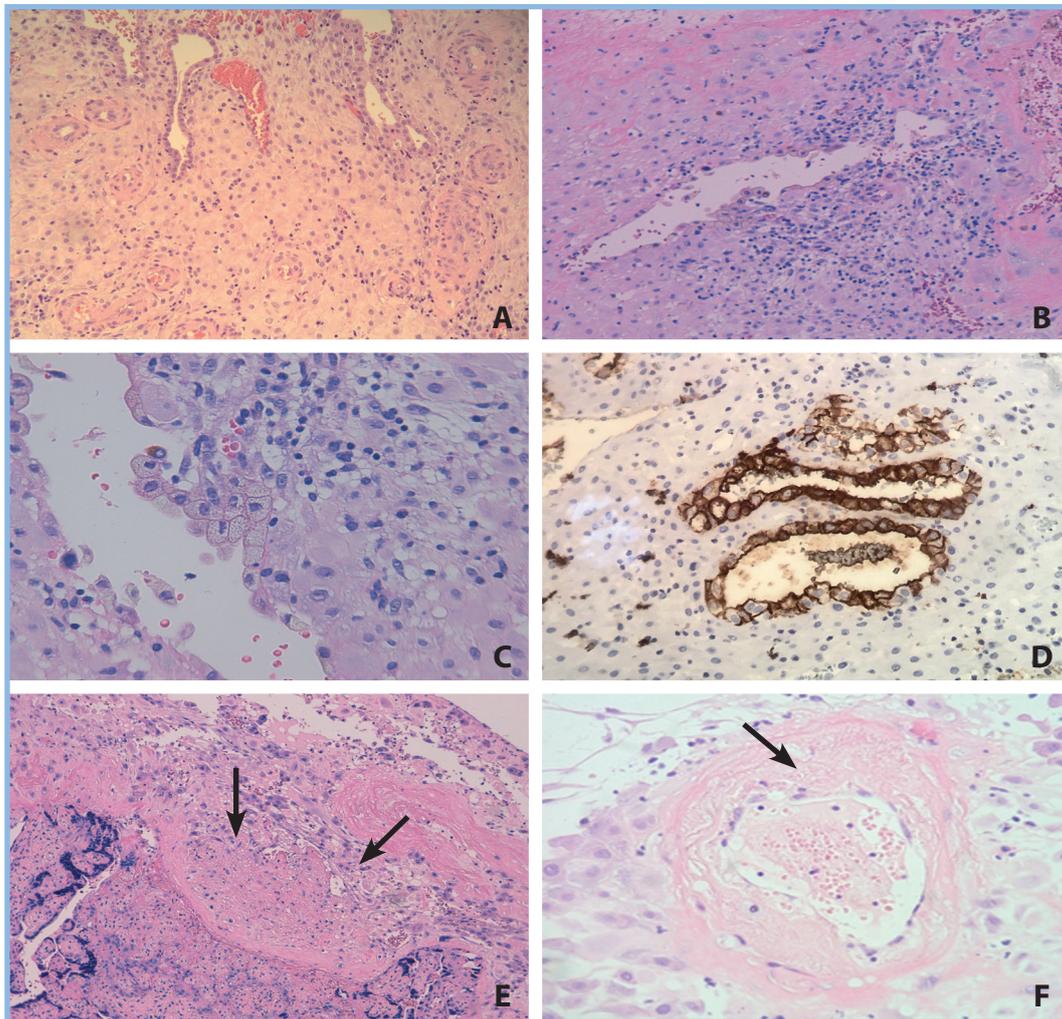
4.4. Variables histopatológicas en embarazo normal y con preeclampsia

Los hallazgos de las características histopatológicas se describen en la Tabla 18. A continuación se exponen las imágenes histopatológicas más relevantes de los casos con preeclampsia (Figura 26 y figura 27).



A: sección de disco placentario con zona de infarto y zona normal adyacente en la que es visible la presencia de amplio espacio intervelloso a 10x. **B:** infarto agudo con aglutinación o amontonamiento de vellosidades sin espacio intervelloso interpuesto. Flecha: algunas células conservan los núcleos y otras lo han perdido por muerte celular a 10x. **C:** infarto crónico en el que se aprecia amontonamiento de vellosidades, las cuales han perdido los núcleos y se acompañan de depósito de fibrina a 10x. **D:** Nodos sincitiales o fenómeno de Tenney Parker con aumento de núcleos en el sinciotrofoblasto de superficie 20x. **E:** detalle de nodos sincitiales con numerosos núcleos 40x. **F:** presencia de cuerpos apoptóticos mediante visualización con técnica convencional de H&E a 40x. Fotos tomadas de placentas con preeclampsia pertenecientes a este estudio.

Figura 26. Principales hallazgos histopatológicos en placentas con preeclampsia I.



A y B: decidua maternal/basal en embarazo de más de 20 semanas que muestra vasos de calibre medio con presencia de capa muscular persistente en pared (placentación deficiente) 20x. **C:** vaso sanguíneo con aterosclerosis aguda (presencia de macrófagos espumosos en endotelio). **D:** técnica de inmunohistoquímica para CD68 que tiñe con cromógeno marrón el citoplasma, confirmando que las células son macrófagos. **E y F:** decidua basal que muestra dos vasos sanguíneos con depósito de material eosinófilo de color rosa en el endotelio de tipo fibrina (flechas) o necrosis fibrinoide a 20x y 40x.

Figura 27. Principales hallazgos histopatológicos en placentas con preeclampsia II.

Arteriopatía en decidua basal: El daño en los vasos de la decidua basal (vasos modificados) fue más importante en el grupo de casos con preeclampsia. En los embarazos normales únicamente se detectó en el 13,3% de los casos. Por el contrario se encontró que el 65,8% de los casos con preeclampsia mostraron daño a este nivel (Tabla 19).

Variables histopatológicas	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Arteriopatía decidual n (%)	2 (13,3)	25 (65,8)	0,009*
Daño vascular en vellosidades n (%)	5 (33,3)	11 (28,9)	0,500*
Aterosis aguda n (%)	0 (0)	18 (47,4)	0,005
Necrosis fibrinoide n (%)	0 (0)	14 (36,8)	0,023*
Otro tipo de daño vascular n (%)	6 (60)	12 (68,4)	0,010
Infartos n (%)	2 (13,3)	21 (55,3)	0,005*
Fibrina n (%)	14 (93,3)	37 (97,4)	0,490*
Trombosis vascular n (%)	1 (6,7)	1 (2,5)	0,490*
Nodos sincitiales n (%)	14 (93,3)	38 (100)	0,283*
Hipervascularización vellositaria n (%)	11 (73,3)	28 (73,7)	0,616*
Corangiosis n (%)	2 (13,3)	7 (18,4)	0,501*
Incremento en células de Hoffbauer n (%)	4 (26,7)	12 (31,6)	0,500*
Inflamación n (%)	3 (20)	8 (21,1)	0,631*
Inflamación aguda n (%)	1 (6,7)	5 (13,2)	0,631*
Inflamación crónica n (%)	2 (13,3)	2 (5,3)	0,631*
Cambios estromales n (%)	10 (66,7)	23 (60,5)	0,791*
Calcificaciones n (%)	11 (73,3)	26 (68,4)	0,500*
Apoptosis evaluada con H&E n (%)	7 (46,7)	10 (26,3)	0,135*
Brotos sincitiales n (%)	8 (53,3)	26 (68,4)	0,692*
Puentes sincitiales n (%)	5 (33,3)	19 (50)	0,215*
Placentación deficiente n (%)	0 (0)	25 (65,8)	<0,0001*

*U de Mann-Whitney **Chi cuadrado de Pearson.

Tabla 18. Variables histopatológicas embarazo normal y preeclampsia (preeclampsia). H&E: hematoxilina y eosina.

	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Arteriopatía decidual n (%)			0,009**
Ausencia	13 (86,7)	13 (34,2)	
Presencia	2 (13,3)	25 (65,8)	

Tabla 19. Arteriopatía decidual. **Chi-cuadrado de Pearson.

Daño vascular en vellosidades: El daño en las vellosidades placentarias no mostró diferencia entre los grupos estudiados. Esta alteración se encontró en el 33,3% (n= 5) y 28,9% (n= 11) de los casos normales y de preeclampsia respectivamente (p= 0,500).

Daño en vasos de calibre medio: La afectación de vasos de mediano calibre fue significativa-

mente superior en la población con preeclampsia en comparación con los casos control. Encontramos afectación en vasos de calibre medio en el 68,4% (n= 26) y 26,7% (n= 4) del grupo con preeclampsia y control, respectivamente (p= 0,007). Algunos de estos vasos se localizaron en decidua (Tabla 20).

	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Daño vasos calibre medio n (%)			0,007**
Ausencia	11 (73,3)	12 (31,6)	
Presencia	4 (26,7)	26 (68,4)	

Tabla 20. Daño vascular en vasos de calibre medio. **Chi-cuadrado de Pearson.

Hipertrofia de capa muscular: No detectamos cambios muy relevantes en la distribución de la presencia de hipertrofia de la capa muscular de los vasos sanguíneos, ya que en ambos grupos lo más común fue la ausencia del engrosamiento de la pared muscular. Este cambio morfológico estuvo presente tanto en las placentas control como en las de preeclampsia, sin existir diferencias estadísticamente significativas. El 40% del grupo control (n= 6) y 39,5% (n= 15) del grupo con preeclampsia mostraron este cambio (p= 0,915).

Aterosis aguda (macrófagos espumosos en la pared de los vasos): Uno de los principales cambios histopatológicos asociados a la preeclampsia lo encontramos predominantemente en placentas con preeclampsia con un 47,4% (n= 18). Ninguno de los casos control de embarazos normales mostró aterosis (p= 0,005). (Tabla 21 y gráfico 1).

	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Aterosis (macrófagos espumosos en la pared vascular) n (%)			0,005**
Ausencia	15 (100)	20 (52,6)	
Presencia	0 (0)	18 (47,4)	

Tabla 21. Distribución de la aterosis aguda. **Chi-cuadrado de Pearson.

Este tipo de daño vascular en la preeclampsia fue predominantemente leve con afectación de 1 a 2 vasos lo que correspondió al 42,1% (n= 16) y únicamente se detectaron dos casos con afectación vascular de este tipo en más de tres vasos sanguíneos lo que constituyó el 5,3% (p= 0,005) (Tabla 22).

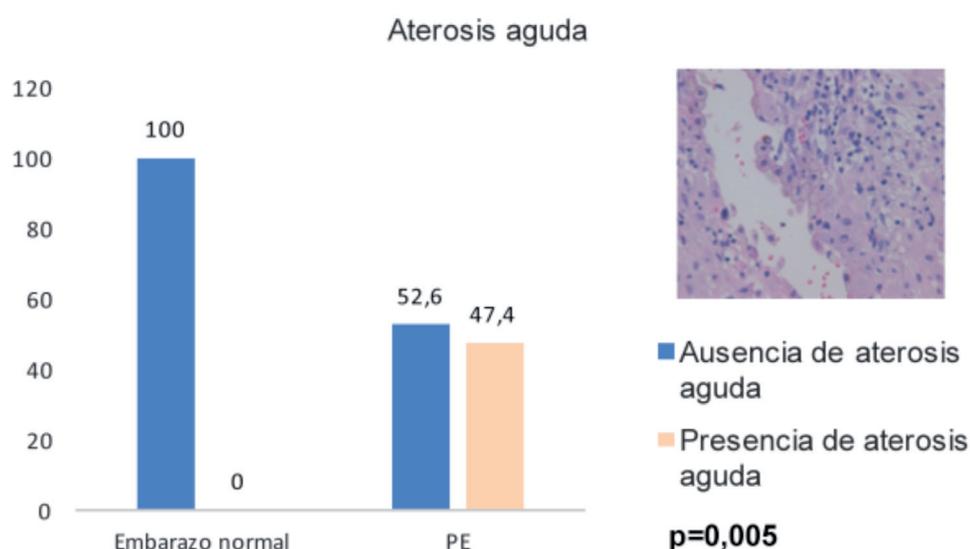


Gráfico 1. Aterosis aguda (%). Corte histológico que muestra un vaso sanguíneo con aterosis aguda, localizado en decidua basal con macrófagos de citoplasma espumoso recubriendo parcialmente el endotelio. Placenta pretérmino con preeclampsia tinción con hematoxilina y eosina a 40X.

	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Aterosis (macrófagos espumosos en la pared vascular) n (%)			0,005**
Ausencia	15 (100)	20 (52,6)	
Leve (1 a 2 vasos afectados)	0	16 (42,1)	
Moderada (3 vasos afectados o más)	0	2 (5,3)	

Tabla 22. Distribución del grado de afectación de la aterosis aguda.

Necrosis fibrinoide: Otro de los datos histopatológicos más característicos de la preeclampsia estuvo ausente en los casos de placentas producto de gestaciones normales. Sin embargo el 36,8% de placentas con preeclampsia mostraron necrosis fibrinoide. Existiendo diferencias estadísticamente significativas respecto a las gestaciones normales ($p= 0,023$) (Tabla 23 y gráfico 2).

	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Necrosis fibrinoide n (%)			0,023**
Ausencia	15 (100)	24 (63,2)	
Presencia	0 (0)	14 (36,8)	

Tabla 23. Necrosis fibrinoide.

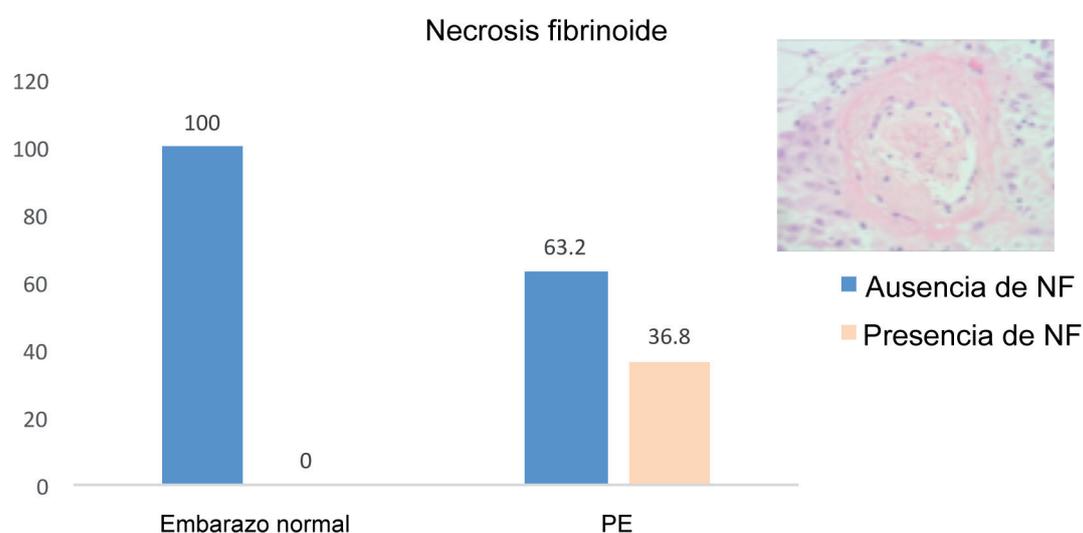


Gráfico 2. Necrosis fibrinoide (%). Corte histológico con necrosis fibrinoide (NF) en un vaso sanguíneo de la decidua basal en la que se demuestra engrosamiento de la pared vascular con depósito de fibrina eosinófila intramural. Placenta pretérmino con preeclampsia, tinción con hematoxilina y eosina a 40X.

De los 36,8% de casos con necrosis fibrinoide en la preeclampsia, en la mayor parte hubo afectación de escaso número de vasos sanguíneos (presencia de necrosis fibrinoide leve) con un 26,3% (n= 10) y en el resto se afectaron tres vasos o más con el 10,5% (n= 4) del total. La mayoría de este tipo de daño vascular fue leve en los casos estudiados. Únicamente 4 casos mostraron este daño de forma moderada. (Tabla 24 y figura 28).

	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Necrosis fibrinoide n (%)			0,023**
Ausencia	15 (100)	24 (63,2)	
Leve (1 a 2 vasos afectados)	0	10 (26,3)	
Moderada (3 vasos afectados o más)	0	4 (10,5)	

Tabla 24. Distribución del grado de afectación de la necrosis fibrinoide. **Chi-cuadrado de Pearson.

Otro tipo de daño vascular: Además de los cambios histopatológicos descritos previamente, se identificaron lesiones vasculares de diversa índole como vacuolización endotelial, edema, inflamación, villitis y reducción de la luz de los vasos fetales. Ambos grupos estudiados mostraron un daño

vascular muy similar, ya que el 60% de los casos de placentas normales tuvieron afectación (n= 6) y en el grupo de preeclampsia el 68,4% (n= 12) de placentas mostraron este tipo de alteraciones (p= 0,010). En términos globales el grado de daño vascular también mostró una distribución similar en los dos grupos (Tabla 25 y 26).

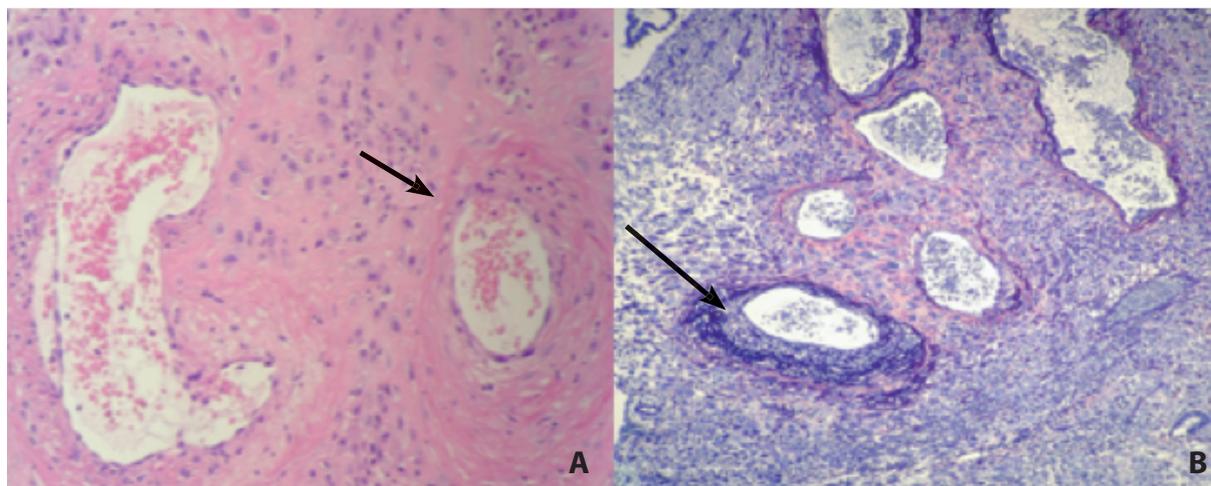


Figura 28. A: Corte histológico que muestra un vaso sanguíneo indicado por la flecha que muestra engrosamiento de la pared sin depósito evidente de fibrina, placenta con preeclampsia pretérmino. Tinción con hematoxilina y eosina a 40X. B: Corte histológico de la misma zona mostrada anteriormente, con tinción de histoquímica hematoxilina ácido fosfotúngstica (PTHA) que tiñe de violeta la fibrina y confirma el depósito de fibrina en el vaso sanguíneo (necrosis fibrinoide) en la placenta con preeclampsia pretérmino del mismo caso a 20X.

	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Otros tipos de daño vascular n (%)			0,010**
Ausencia	9 (60)	26 (68,4)	
Vacuolización endotelial	0 (0)	7 (18,4)	
Edema	0 (0)	3 (7,9)	
Inflamación	2 (13,3)	2 (5,3)	
Villitis (inflamación de la vellosidad)	1 (6,7)	0 (0)	
Reducción de luz vasos fetales	3 (20)	0 (0)	

Tabla 25. Otros tipos de daño vascular. **Chi -cuadrado de Pearson.

	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Grado de otros tipos de daño vascular n (%)			0,968**
Ausencia	9 (66,7)	26 (68,4)	
Leve (1 a 2 vasos afectados)	5 (26,7)	9 (23,7)	
Moderada (3 vasos afectados o más)	1 (6,7)	3 (7,9)	

Tabla 26. Grado de afectación de otros tipos de daño vascular. **Chi -cuadrado de Pearson.

Infartos: Se puede observar el aspecto macroscópico e histopatológico de los infartos en las figuras 29,30 y 31.

Los infartos fueron más frecuentes en los casos de placentas con preeclampsia que en los casos de placentas de embarazos normales con un 55,3% y 13,3% respectivamente ($p= 0,005$)(Gráfico 3).



Figura 29. Foto macroscópica de un infarto central en una placenta del tercer trimestre en fresco (sin fijación en formaldehído). La zona de infarto se caracteriza por aumento de la consistencia y color blanquecino que la distingue claramente del resto de tejido placentario.

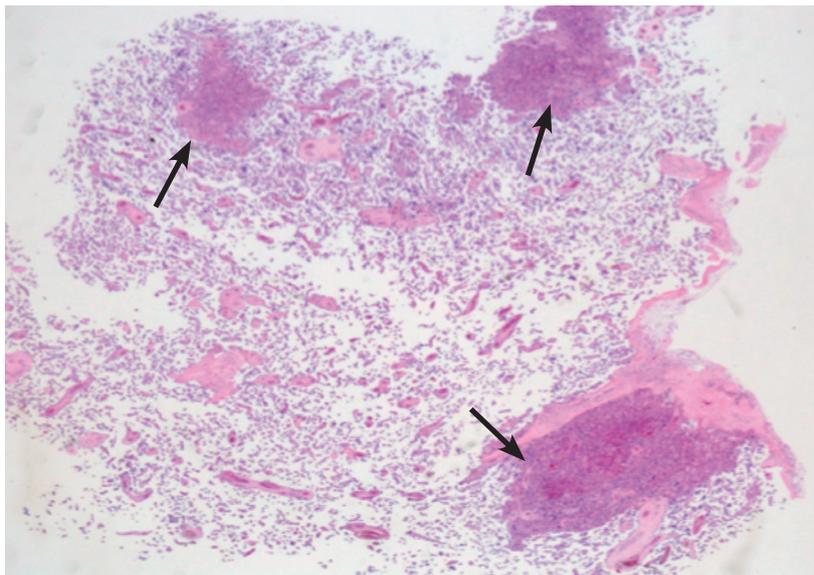


Figura 30. Corte histológico que muestra la presencia de múltiples infartos agudos. Las zonas de infarto (flechas) destacan debido al agrupamiento o amontonamiento de las vellosidades que resulta muy evidente en contraste con el resto del tejido placentario sin infarto. Placenta a término con preeclampsia. Tinción con hematoxilina y eosina a 4X.

Observamos que existe mayor número de focos de infarto en las placentas con preeclampsia que en las placentas de gestaciones normales (Tabla 27).

Las placentas de embarazos normales no mostraron infartos centrales, únicamente periféricos

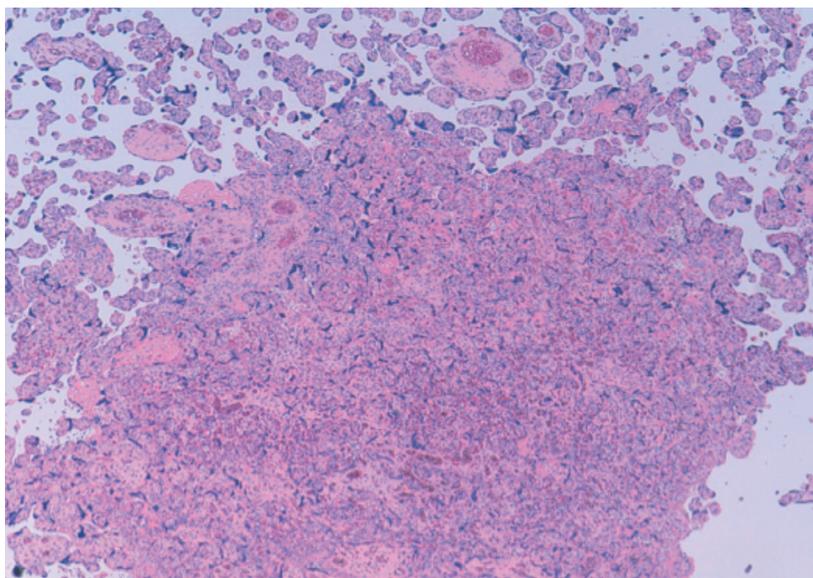


Figura 31. Corte histológico que muestra agrupamiento o “aglutinación” de las vellosidades, que se encuentran muy próximas entre sí, en comparación con el tejido placentario de la periferia que rodea esta zona y que muestra mayor espacio intervellositario. Se cataloga como infarto agudo debido a que los núcleos del epitelio de revestimiento de las vellosidades en su mayor parte conservan la viabilidad e hiper cromasia que indica una evolución precoz o temprana. Placenta con preeclampsia pretérmino. Tinción con hematoxilina y eosina a 10X.

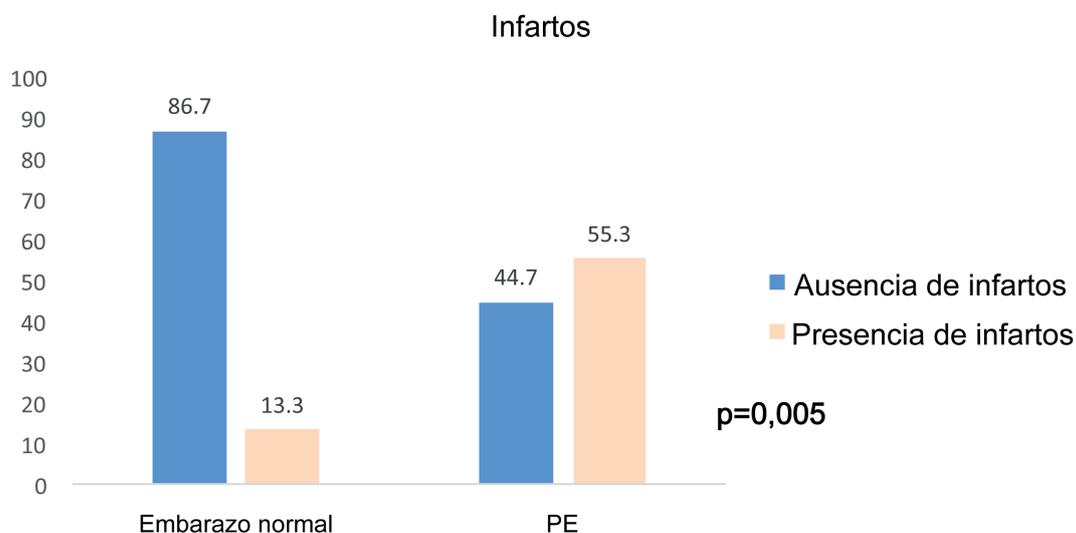


Gráfico 3. Distribución de los infartos (%).

($p= 0,021$). El grupo de mujeres con preeclampsia mostró mayor proporción de infartos agudos y crónicos (13,2% y 21,1% respectivamente) que el grupo de casos control de embarazo normal que mostró un 6,7% y 6,7% de infartos agudos y crónicos ($p= 0,069$).

Fibrina y grado de depósito de fibrina: El depósito de fibrina es un hallazgo común en las placentas, independientemente de la presencia de patología placentaria. En este estudio el depósito de fibrina fue evidente en el 93,3% ($n= 14$) de los casos control y en el 97,4% ($n= 37$) de los casos con preeclampsia ($p= 0,490$). En relación a la distribución del grado de afectación, existió una mayor

	Normal ($n= 15$)	Preeclampsia ($n= 38$)	p
Número de infartos n (%)			0,315**
Ausencia	13 (86,7)	17 (58,5)	
Foco único	1 (6,7)	8 (18,4)	
Dos focos 0 (0)	0 (0)	3 (7,9)	
Tres focos 2 (13,3)	0 (0)	5 (13,2)	
Cuatro focos	1 (6,7)	2 (5,3)	
Cinco focos	0 (0)	1 (2,6)	
Más de cinco focos	0 (0)	2 (5,2)	

Tabla 27. Número de infartos. **Chi-cuadrado de Pearson.

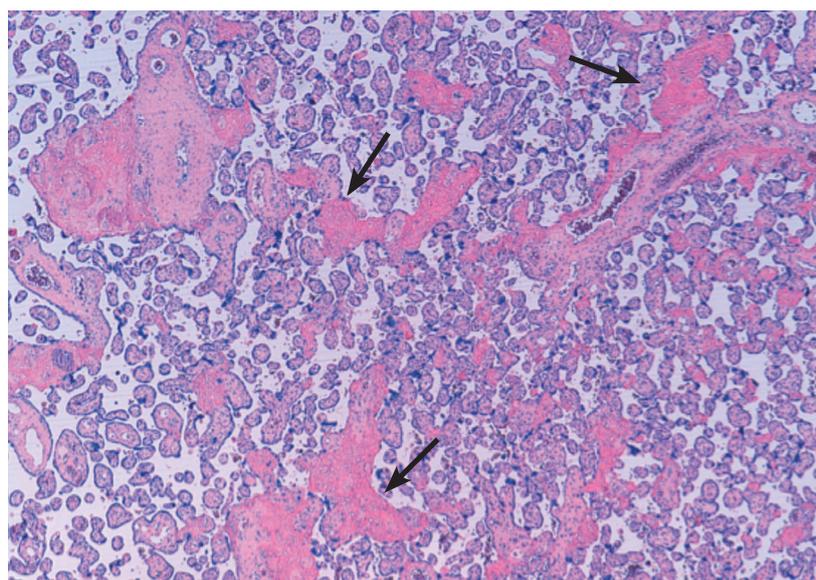


Figura 32. Corte histológico que muestra material eosinófilo acelular (fibrina) recubriendo la superficie de algunas estructuras vellositarias de diferentes tamaños. En esta imagen el cambio es leve y constituye menos del 30% del total de tejido placentario estudiado. Placenta a término embarazo normal. Tinción con hematoxilina y eosina a 4X.

extensión en el depósito de fibrina en las placentas con preeclampsia. En los embarazos normales el depósito de fibrina fue predominantemente inferior al 30% (80%, n= 12), entre el 30 y el 50% (20%, n= 3) y no se encontró ningún caso con depósito de más del 50% de fibrina. Por el contrario, las placentas con preeclampsia mostraron un mayor grado de depósito de fibrina, ya que el 5,3% (n= 2) fue

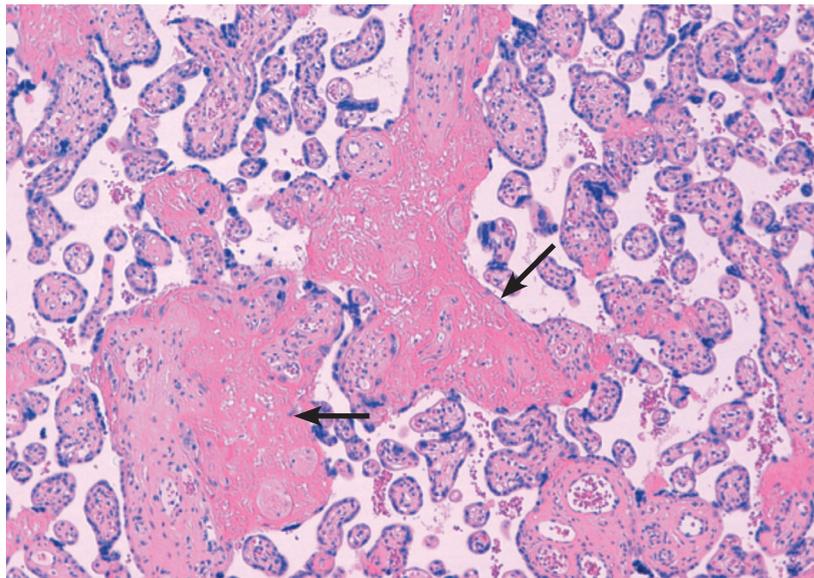


Figura 33. Corte histológico que muestra la presencia de fibrina (material acelular de color rosa ó eósinofilo) en la periferia o superficie de las vellosidades. Placenta a término de embarazo normal. Tinción con hematoxilina y eosina a 10X.

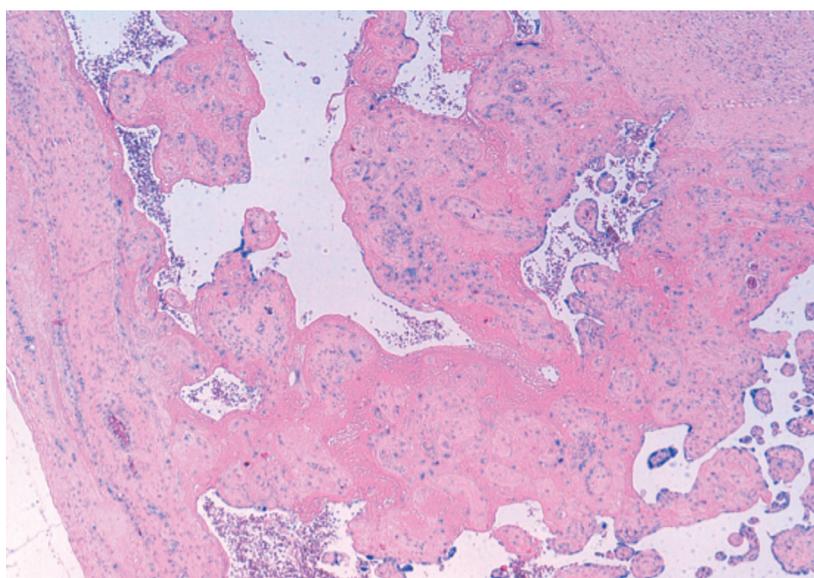


Figura 34. Corte histológico que demuestra depósito de fibrina mayor al 50% en una placenta a término del grupo control. Tinción con hematoxilina y eosina a 4X.

mayor al 50%, el 28,9% (n= 11) mostró fibrina entre el 30 y 50% y el 50% (n= 19) tuvo depósito de fibrina inferior al 30% (p= 0,162)(Figuras 32-36).

Trombosis vascular: Este cambio fue detectado en un número mínimo de casos y no mostró

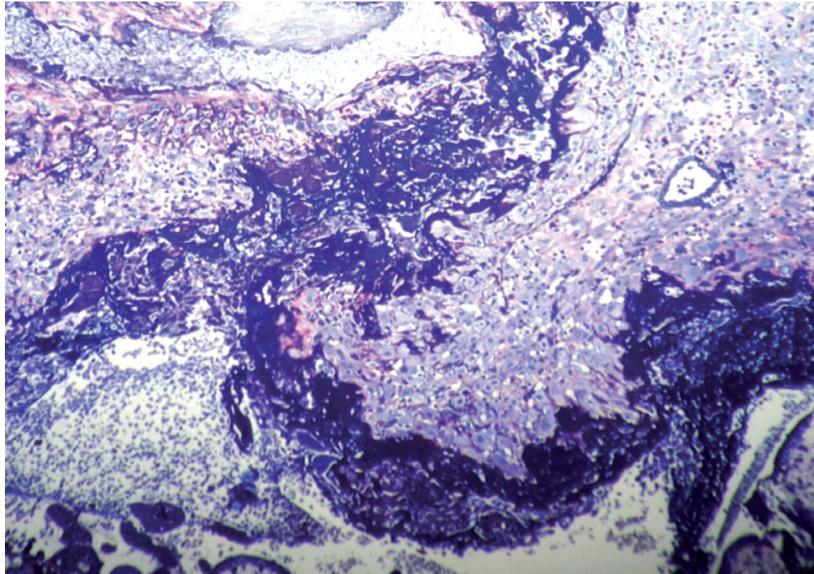


Figura 35. Corte histológico de la decidua basal con depósito de fibrina en superficie. Placenta a término embarazo normal. Tinción con técnica histoquímica de hematoxilina ácido fosfotúngstica (PTHA) que tiñe de color violeta la fibrina a 20X.

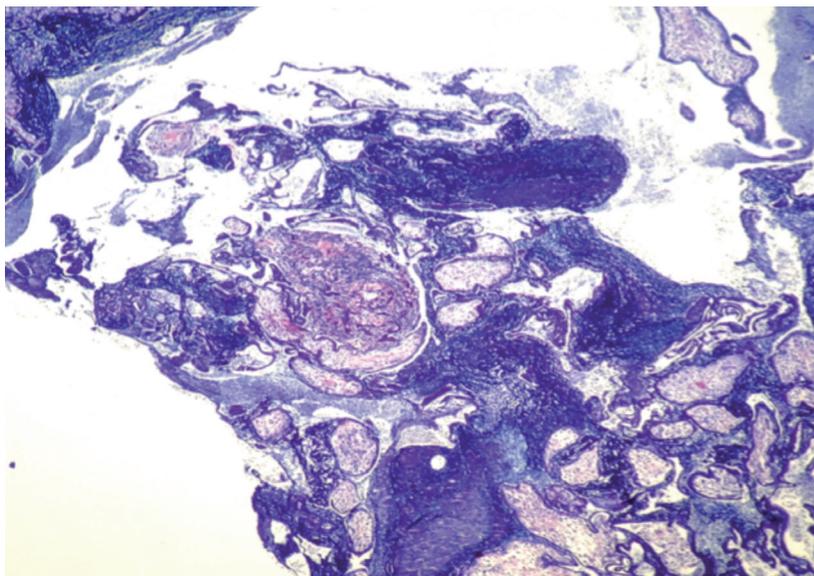


Figura 36. Corte histológico en la que se observan vellosidades placentarias terciarias, con depósito de fibrina (material acelular) en superficie. Placenta a término en embarazo normal. Tinción con técnica histoquímica de hematoxilina ácido fosfotúngstica (PTHA) que tiñe de violeta la fibrina a 10X.

diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. Se identificó trombosis vascular en 1 caso del grupo control y 1 caso del grupo con preeclampsia (6,7% y 2,5%, respectivamente ($p= 0,490$)).

Nodos sincitiales y grado de afectación por nodos sincitiales: En la figura 37 se observa la imagen histopatológica de los nodos sincitiales. Los nodos sincitiales estuvieron presentes en la gran mayoría de las placentas estudiadas, en el 93,3%, ($n= 14$) de las placentas control y el 100% ($n= 38$) de las placentas con preeclampsia ($p= 0,283$). Sin embargo, al estudiar el grado de afectación por este cambio, las placentas con preeclampsia mostraron mayor grado de afectación (más del 30% de la sección estudiada) en el 15,8% ($n= 6$) con depósito de fibrina de más del 50%, 50% ($n= 19$) afectando entre el 30 y 50% y 34,2% afectando menos del 30%. Las placentas con preeclampsia presentaron mayores grados de afectación que el embarazo normal, donde predominó el grado leve (inferior al 30%) en el 80% de los casos ($n= 12$) y únicamente el 20% ($n= 3$) mostró depósito de fibrina entre el 30 y 50% ($p= 0,009$) (Tabla 28 y gráfico 4).

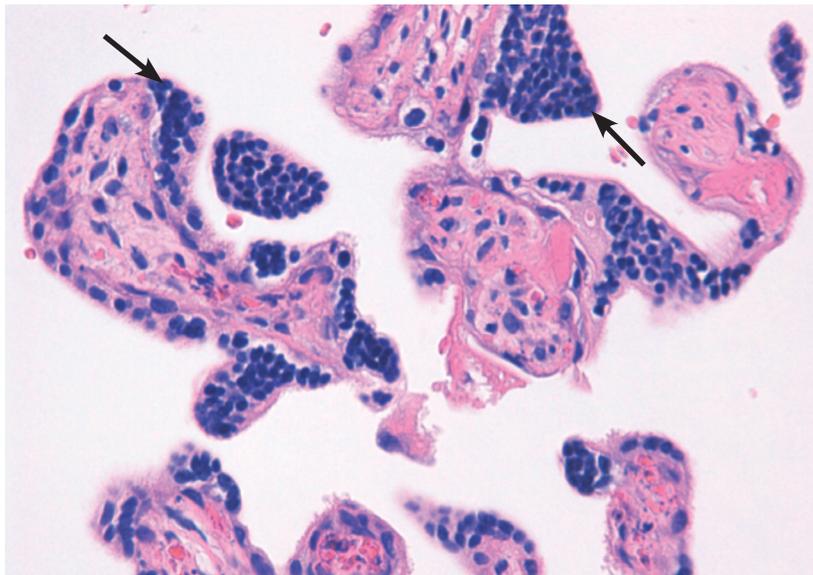


Figura 37. Corte histológico que muestra nodos sincitiales (agrupaciones de núcleos de sincitiotrofoblasto que forma pequeños nódulos sobre la superficie de la vellosidad). Placenta pretérmino con preeclampsia. Tinción con hematoxilina y eosina a 40X.

	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Grado de nodos sincitiales n (%)			0,009**
<30%	12 (80)	13 (34,2)	
Entre el 30 y el 50%	2 (20)	19 (50)	
>50%	0 (0)	6 (15,8)	

Tabla 28. Grado de nodos sincitiales.**Chi-cuadrado de Pearson.

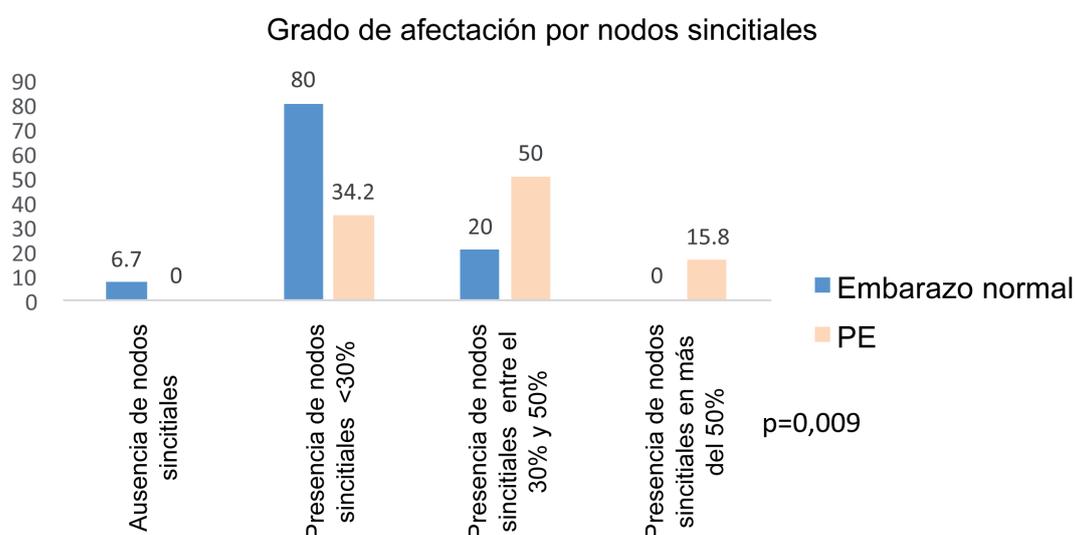


Gráfico 4. Distribución del grado de afectación de nodos sincitiales (%).

Hipervascularización vellositaria: No hubo diferencias significativas en esta variable entre los grupos de estudio debido a que en ambos grupos se pudo encontrar la presencia importante de aumento de vascularización. El 73,3% (n= 11) y 73,7% (n= 28) del grupo control y grupo con preeclampsia, respectivamente, mostraron este cambio (p= 0,616). El grado de vascularización vellositaria sí mostró diferencias, con un incremento moderado de la vascularización en las placentas de preeclampsia en comparación con las placentas normales, en cuyo grupo el mayor número de casos con aumento de la vascularización se consideró dentro de la categoría leve. Los casos con preeclampsia mostraron mayor grado de hipervascularización, con afectación moderada en el 39,5% (n= 15) en este grupo versus el 20% (n= 3) en los casos control (p= 0,377). El 33,3% (n= 5) del grupo control y el 28,9% (n= 11) del grupo con preeclampsia no mostraron signos de hipervascularización vellositaria. En el grupo control predominó la hipervascularización leve con el 46,7% y en el grupo con

preeclampsia predominó ligeramente la afectación moderada sobre la leve con 39,5% de afectación moderada y 31,6% de afectación leve.

Corangiosis: En las placentas estudiadas tanto normales como con preeclampsia, aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, se observó que la corangiosis fue más frecuente en las placentas con preeclampsia, detectándose en el 18,4% (n= 7) de las placentas con preeclampsia y en el 13,3% (n= 2) de los casos control respectivamente ($p= 0,501$). El grado moderado de corangiosis se presentó en el 5,3% de los casos con preeclampsia y ninguno en los casos normales ($p= 0,663$). En las placentas normales predominó la ausencia de corangiosis y los pocos casos que la manifestaron fueron leves. En el grupo con preeclampsia se observó también escasa presencia de corangiosis, pero los casos que tuvieron este cambio la presentaron con un mayor grado de afectación (grados leve y moderado). En la figura 38 se puede observar la imagen histopatológica de un caso de nuestro trabajo con presencia de corangiosis.

Células de Hofbauer: En esta variable no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos, existiendo un número equiparable de estas células con muy discreto incremento de células de Hofbauer en el grupo de preeclampsia en comparación con el grupo normal (31,6% en pree-

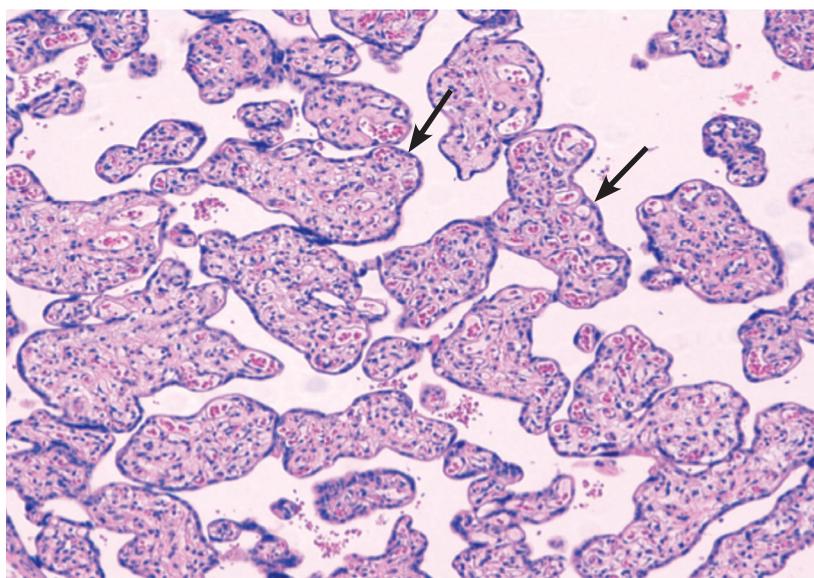


Figura 38. Corte histológico en la que se observan vellosidades placentarias con un notable incremento de vasos sanguíneos capilares en el estroma o corion vellositario. Se puede observar que cada vellosidad contiene más de 10 vasos sanguíneos correspondiendo a corangiosis. Este hallazgo es signo de patología placentaria como la hipoxia. Placenta pretérmino con preeclampsia. Tinción con hematoxilina y eosina a 10X.

clampsia (n= 12) y 26,7% (n= 4) en el grupo control (p= 0,500). Ver figura 39.

Inflamación y grado de inflamación: No existen diferencias estadísticamente significativas de estos hallazgos entre ambos grupos, encontrando celularidad inflamatoria estromal, tanto aguda como crónica, en proporciones variables y poco significativas. El 20% de los casos del grupo control y el 21,1% de casos con preeclampsia mostraron celularidad inflamatoria (p= 0,631). En relación al tipo de inflamación, las placentas del grupo con preeclampsia mostraron mayor celularidad inflamatoria de tipo agudo (13,2% en la preeclampsia y 6,7% en el grupo control) y las del grupo control mayor celularidad de tipo crónico (13,3% en el grupo control y 5,3% en la preeclampsia). En el grado de celularidad no se observaron cambios de relevancia.

Localización de la inflamación: Encontramos que en los casos de preeclampsia, la inflamación mostró una distribución más diversa que en los casos de placentas del grupo control. En los casos de preeclampsia, la inflamación mostró un ligero incremento en la decidua (7,9% en preeclampsia y 6,7% en grupo control, p= 0,581) y afectó de forma adicional a las membranas y vasos fetales, estas últimas localizaciones no se encontraron afectadas por celularidad inflamatoria en los casos control.

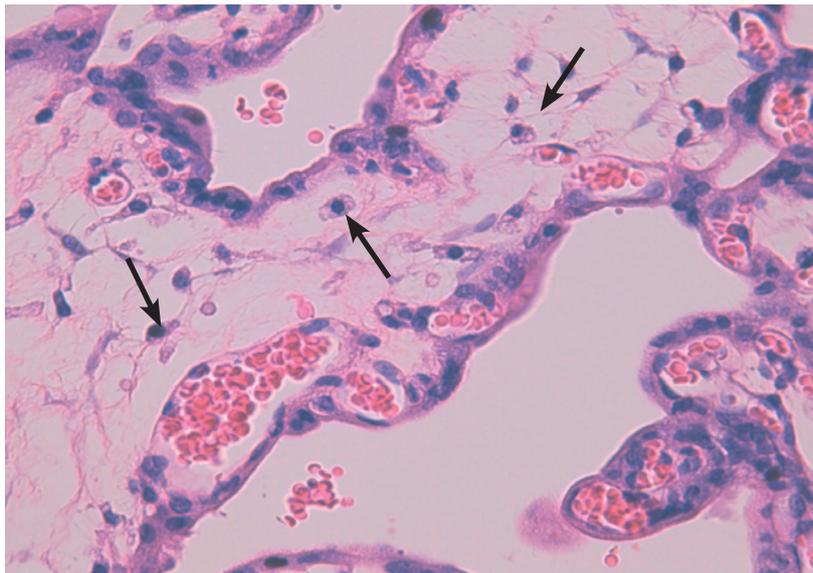


Figura 39. Corte histológico de una vellosidad placentaria con edema estromal moderado y presencia de algunas células de tipo histiocitario con núcleos pequeños y amplio citoplasma vacuolado. Flechas: células de Hofbauer. Placenta pretérmino con preeclampsia. Tinción con hematoxilina y eosina a 40x.

Estroma vellositario: La presencia de cambios estromales tales como el edema y la fibrosis estuvieron presentes en ambos grupos con el 66,7% (n= 10) en el grupo control y 60,5% (n= 23) en grupo con preeclampsia (p= 0,791). El grado de afectación por estos cambios tampoco mostró diferencias, encontrándose mayor presencia de edema y fibrosis en el grupo control (13,3% de los casos versus el 5,3% del grupo con preeclampsia) (Tablas 29 y 30). En las figuras 40 y 41 se puede observar un tipo de cambio estromal que observamos, específicamente el edema.

Calcificaciones y localización de calcificaciones: El 73,3% del grupo control (n= 11) y 68,4% de

	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Características estromales n (%)			0,791**
Sin cambios estromales	5 (33,3)	15 (39,5)	
Edema	3 (20)	8 (21,1)	
Fibrosis	5 (33,3)	13 (34,2)	
Edema y fibrosis	2 (13,3)	2 (5,3)	

Tabla 29. Características del estroma vellositario y grado de cambios estromales.**Chi-cuadrado de Pearson.

	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Grado de cambios estromales n (%)			0,762**
Ausencia	5 (33,3)	15 (39,5)	
Leve (focal)	6 (40,0)	12 (31,6)	
Moderada (multifocal)	4 (26,7)	9 (23,7)	
Severo	0 (0)	2 (5,3)	

Tabla 30. Grado de afectación de cambios estromales.**Chi-cuadrado de Pearson.

las placentas con preeclampsia (n= 26) mostraron este hallazgo histológico (p= 0,500). Observamos ligero predominio de calcificaciones en el grupo control. Sin embargo, en relación a la localización de estas calcificaciones se observaron ciertas diferencias en su distribución, pues en el grupo de preeclampsia se identificó mayor proporción de calcificaciones en la fibrina (23,7%, n= 9) y solamente en el 6,7% (n= 1) del grupo control p= 0,116).

En el grupo control identificamos mayor número de calcificaciones en la decidua que en placentas con preeclampsia (53,3%, n= 8 y 15,8%, n= 6, respectivamente) (p= 0,116). Las placentas con pree-

clampsia mostraron mayor número de calcificaciones en vellosidades que el grupo control (10,5%, n= 4 y 6,7%, n= 1) (Figura 42).

Los vasos sanguíneos de las placentas con preeclampsia mostraron mayor número de calcificaciones que el grupo control (5,3%, n= 2 en la preeclampsia y 0% en el grupo control, p= 0,116). No

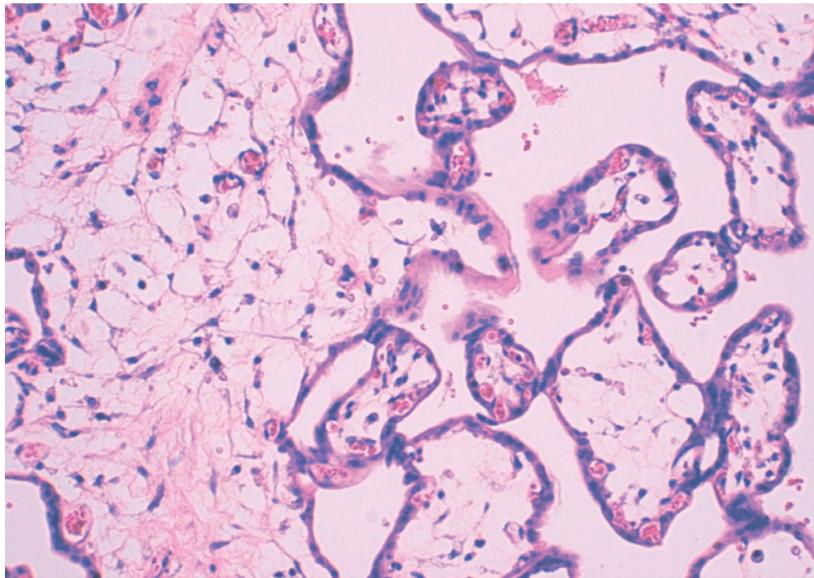


Figura 40. Corte histológico que muestra edema de corion o estroma vellositario. Placenta con preeclampsia a término. Tinción con hematoxilina y eosina a 20X.

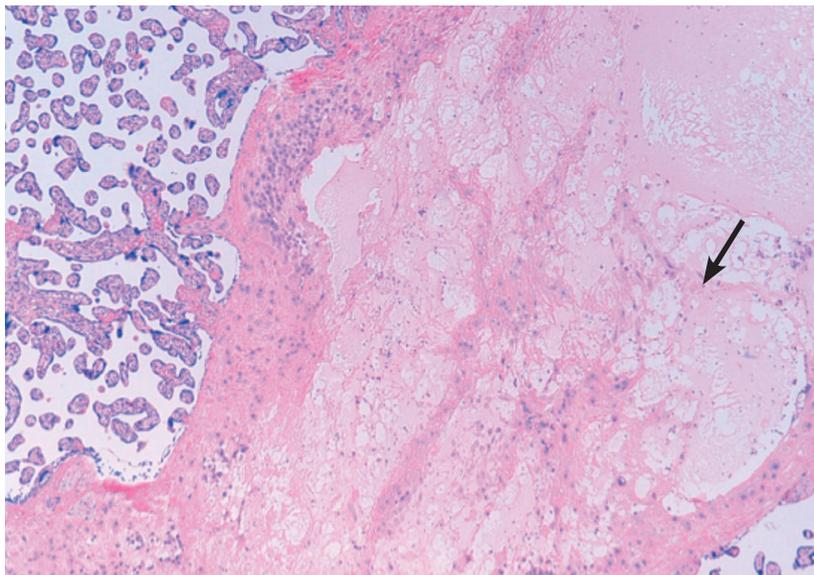


Figura 41. Corte histológico que muestra edema que afecta la decidua con formación de espacios amplios con depósito de líquido y separación de estructuras tisulares. Mismo caso que la imagen anterior en placenta con preeclampsia a término. Tinción con hematoxilina y eosina a 10X.

observamos diferencias entre grupos en cuanto al grado de extensión de las calcificaciones, ambos grupos mostraron una afectación leve (<30%), en el 53,3% (n= 8) en embarazo normal y 55,3% (n= 21) en preeclampsia y afectación moderada en el 13,3% (n= 2) y 13,2% (n= 5), respectivamente (p= 0,991) (Tablas 31, 32, y 33).

Brotos sincitiales: Se encontró cierto predominio de este cambio en el grupo de placentas con preeclampsia (68,4% en el grupo con preeclampsia y 53,3% en el grupo control (p= 0,236). El grado de afectación por brotes sincitiales fue leve en el 40% y 47,4% del grupo control y grupo con preeclampsia y moderado en el 13,3% y 18,4% respectivamente (p= 0,692). El grupo con preeclampsia mostró pues un mayor número de brotes y mayor afectación de tipo leve y moderado (Tablas 34 y 35).

	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Calcificaciones n (%)			0,500**
Ausencia	4 (26,7)	11 (31,6)	
Presencia	11 (73,3)	26 (68,4)	

Tabla 31. Calcificaciones.**Chi-cuadrado de Pearson.

	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Localización de calcificaciones n (%)			0,116**
Ausencia	4 (26,7)	12 (31,6)	
Decidua	8 (53,3)	6 (15,8)	
Vellosidades	1 (6,7)	4 (10,5)	
Vasos sanguíneos	0 (0)	2 (5,3)	
Decidua y vellosidades	1 (6,7)	5 (13,2)	
Fibrina	1 (6,7)	9 (23,7)	

Tabla 32. Localización de calcificaciones.**Chi-cuadrado de Pearson.

	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Grado calcificaciones n (%)			0,991**
Ausencia	4 (26,7)	12 (31,6)	
Leve	9 (53,3)	21 (55,3)	
Moderada	2 (13,3)	5 (13,2)	

Tabla 33. Grado de afectación por calcificaciones.**Chi-cuadrado de Pearson.

Puentes sincitiales: Las placentas con preeclampsia mostraron mayor número de puentes que el grupo control, así el grupo con preeclampsia tuvo el 50% (n= 19) versus 33,3% (n= 5) del grupo control (p= 0,215). El grado de afectación de tipo leve fue del 40% (n= 6) y 44,7% (n= 17) en grupo control y grupo con preeclampsia, y de tipo moderado el 0% y 5,3% (n= 2) respectivamente (p= 0,592). De manera similar la presencia de brotes sincitiales, y de puentes sincitiales mostró predominio en el grupo con preeclampsia y además un mayor grado de afectación.

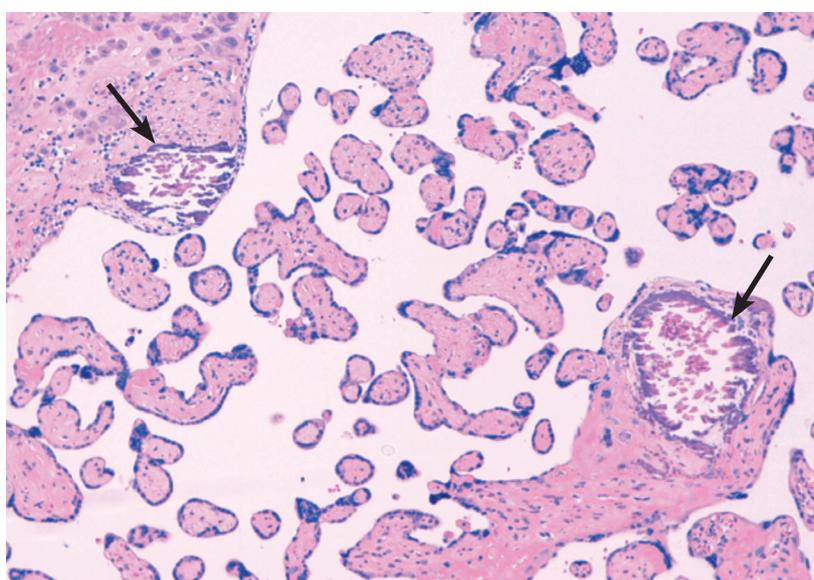


Figura 42. Corte histológico que muestra calcificaciones (depósito de calcio) en el estroma de una vellosidad placentaria (flecha larga) y en la decidua (flecha corta). Las calcificaciones presentan una tonalidad basófila o azulada y signos de "resquebrajamiento". Placenta a término en embarazo normal. Tinción con hematoxilina y eosina a 10X.

	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Brotos sincitiales n (%)			0,236**
Ausencia	7 (46,7)	12 (31,6)	
Presencia	8 (53,3)	26 (68,4)	

Tabla 34. Brotos sincitiales.**Chi-cuadrado de Pearson.

	Normal (n= 15)	Preeclampsia (n= 38)	p
Brotos sincitiales n (%)			0,991**
Ausencia	7 (46,7)	13 (34,2)	
Leve <30%	6 (6,40)	18 (47,7)	
Moderada (de 30 a 50%)	2 (13,3)	7 (18,4)	

Tabla 35. Grado de afectación por brotes sincitiales.**Chi-cuadrado de Pearson.

Apoptosis evaluada mediante hematoxilina y eosina: Mediante la evaluación con hematoxilina y eosina se encontró mayor proporción de apoptosis en placentas de embarazos normales que en las de preeclampsia (46,7% versus 26,3% respectivamente, $p=0,135$). Este cambio lo identificamos únicamente en el epitelio de recubrimiento de las vellosidades (Gráfico 5).

En relación a los vasos fetales de placa coriónica se observó que en los embarazos normales el 86,7% mostró reducción leve de la luz por hipertrofia muscular y el 13,3% mostraron reducción moderada, en contraste con una reducción de la luz de intensidad leve y moderada en el 47,4% y el 39,5% de los casos con preeclampsia. Los vasos fetales no mostraron signos inflamatorios excepto en 6 casos que se distribuyeron tanto en el grupo control como en el de preeclampsia.

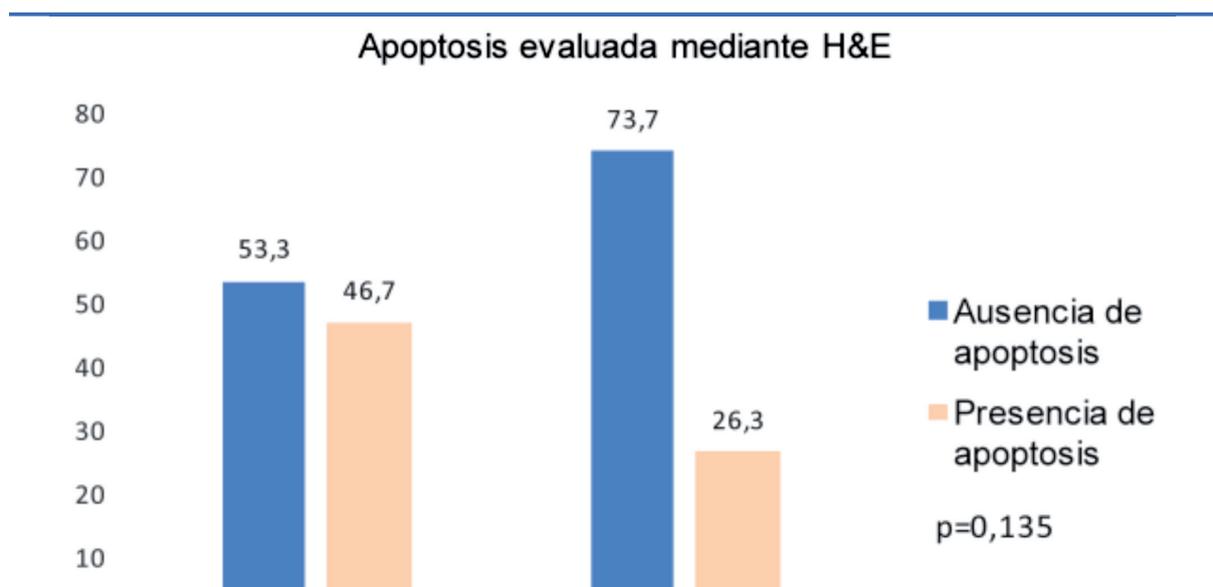


Gráfico 5. Apoptosis evaluada con hematoxilina y eosina (H&E)(%).

Placentación deficiente: La presencia de componente de músculo liso más allá de las 20 semanas de gestación es considerada anormal. Ningún embarazo del grupo control mostró cambios placentarios de placentación deficiente, sin embargo, en las placentas con preeclampsia el 65,8% mostró presencia de placentación inadecuada. Este resultado fue estadísticamente significativo ($p=0,000$)(Gráfico 6).

Resumen de variables histopatológicas en el grupo control y en el grupo con preeclampsia.

En el grupo de placentas con preeclampsia en comparación con el grupo control se observó mayor proporción de los siguientes cambios: Arteriopatía decidual, daño en vasos de calibre

Placentación deficiente en preeclampsia

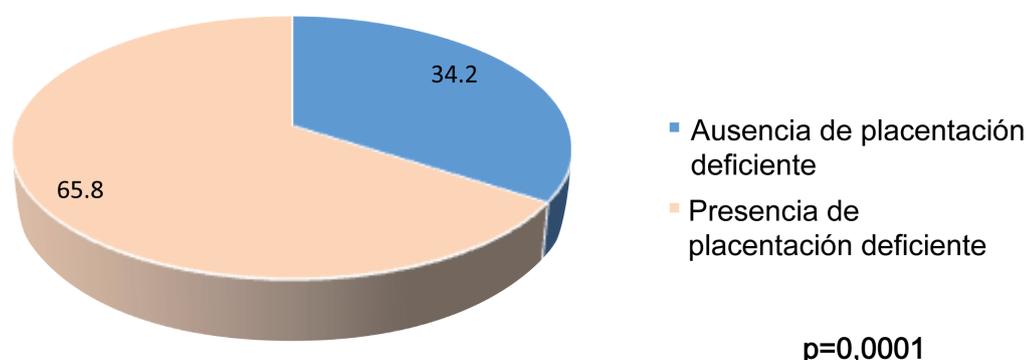


Gráfico 6. Placentación deficiente en el grupo de preeclampsia (%).

medio, presencia de aterosclerosis aguda y necrosis fibrinoide (hallazgos ausentes en los casos del grupo control), presencia de otros tipos de daño vascular, número de infartos, depósito de fibrina, presencia de nodos sincitiales, presencia y grado de corangiosis, número de células de Hofbauer, presencia de inflamación aguda, placentación deficiente y de forma muy llamativa número de brotes y puentes sincitiales.

En las placentas del grupo control con gestación normal hubo mayor predominio que en los casos con preeclampsia en los siguientes hallazgos histopatológicos: Daño vascular en vellosidades, inflamación crónica, cambios en el estroma vellositario, número de calcificaciones y apoptosis evaluada mediante hematoxilina y eosina (Tabla 18).

Encontramos diferencias estadísticamente significativas en el grupo de placentas con preeclampsia en la arteriopatía decidual, aterosclerosis aguda, necrosis fibrinoide, otros tipos de daño vascular, infartos y placentación deficiente (Tabla 18).

4.5. Variables histopatológicas en placentas con preeclampsia a término y pretérmino

A continuación se presentan los resultados en relación a los cambios histopatológicos en las placentas con preeclampsia pretérmino (PPT) y con preeclampsia a término (PT) (Tabla 36).

Variables histopatológicas	PPT (n= 22)	PT (n= 16)	p
Arteriopatía decidual n (%)	16 (72,7)	9 (56,3)	0,238*
Daño vascular en vellosidades n (%)	4 (18,2)	7 (43,8)	0,088*
Aterosis aguda n (%)	12 (54,6)	6 (37,59)	0,349*
Necrosis fibrinoide n (%)	10 (45,4)	4 (25,1)	0,429*
Otro tipo de daño vascular n (%)	8 (36,8)	4 (25)	0,492*
Infartos n (%)	9 (54,5)	12 (56,3)	0,590*
Fibrina n (%)	21 (95,5)	16 (100)	0,579*
Trombosis vascular n (%)	1 (4,5)	0 (0)	0,579*
Nodos sincitiales n (%)	22 (16)	16 (100)	0,031*
<30	10 (45,5)	7 (31,8)	
del 30 al 50%	3 (18,8)	12 (75)	
>50%	5 (22,7)	1 (6,3)	
Hipervascularización vellositaria n (%)	16 (72,7)	12 (75)	0,589*
Corangiosis n (%)	3 (13,6)	4 (25)	0,317*
Incremento en células de Hofbauer n (%)	11 (50)	1 (6,3)	0,004*
Inflamación n (%)	5 (22,7)	3 (18,9)	0,485*
Inflamación aguda n (%)	4 (18,2)	1 (6,3)	0,485*
Inflamación crónica n (%)	1 (4,5)	1 (6,3)	0,485*
Cambios estromales n (%)	14 (63,6)	9 (52,2)	0,004*
Calcificaciones n (%)	11 (50)	15 (93,8)	0,004*
Apoptosis evaluada con hematoxilina y Eosina	7 (31,8)	3 (18)	0,301*
Brotos sincitiales n (%)	13 (59,1)	13 (81,3)	0,136*
Puentes sincitiales n (%)	9 (40,9)	1 (62,5)	0,162*
Placentación deficiente n(%)	17 (77,3)	8 (50)	0,081*

*U de Mann-Whitney **Chi cuadrado de Pearson.

Tabla 36. Variables histopatológicas en preeclampsia pretérmino y preeclampsia a término. PPT: preeclampsia pretérmino. PT: preeclampsia a término.

Arteriopatía decidual: Este cambio se encontró incrementado notablemente en el grupo PPT en comparación con el PT (72,7% y 56,3% respectivamente ($p= 0,0283$) (Tabla 37). El daño vascular en vellosidades e hipertrofia de capa muscular puede verse en las tablas 38 y 39.

Aterosis aguda en preeclampsia: Se observó que el grupo de placentas PT mostró menor aterosis aguda en comparación con las PPT, (37,59% versus 54,6%, respectivamente). El grupo pretérmino mostró mayor afectación tanto leve como moderada. Las placentas de embarazos con PPT presentan mayor riesgo de aterosis y mayor extensión de este daño (Tabla 40 y gráfico 7).

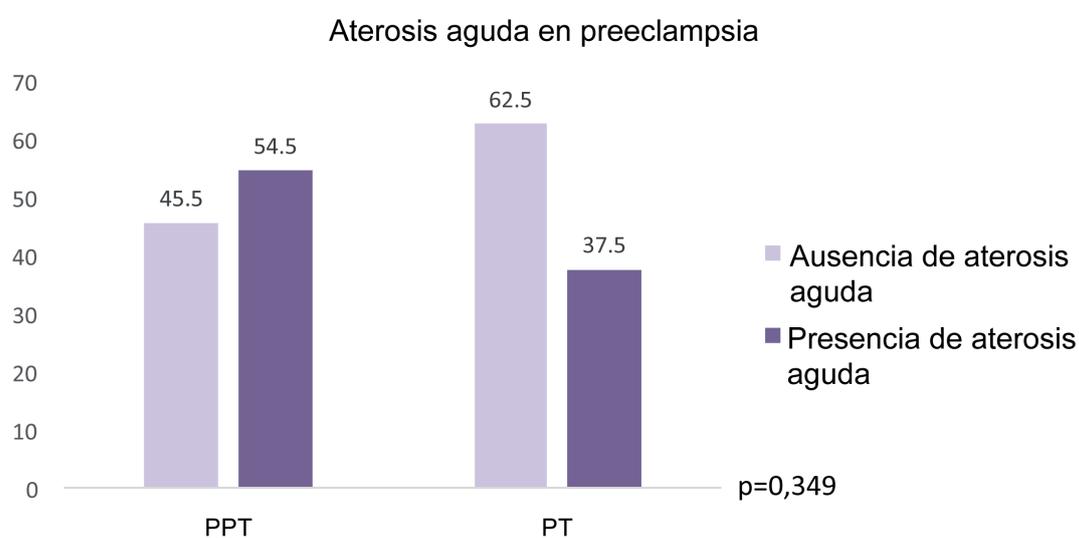


Gráfico 7. Aterosis aguda en preeclampsia (%).

	Pretérmino (n= 22)	Término (n= 16)	p
Arteriopatía decidua basal n (%)			0,0238**
Ausencia	6 (27,3)	7 (43,8)	
Presencia	16 (72,7)	9 (56,3)	

Tabla 37. Distribución de la arteriopatía en decidua basal en grupos con preeclampsia. **Chi-cuadrado de Pearson.

	Pretérmino (n= 22)	Término (n= 16)	p
Daño vascular vellosidades n (%)			0,088**
Ausencia	18 (81,8)	9 (56,3)	
Presencia	4 (18,2)	7 (43,8)	

Tabla 38. Daño vascular en las vellosidades placentarias en preeclampsia. **Chi-cuadrado de Pearson.

	Pretérmino (n= 22)	Término (n= 16)	p
Hipertrofia capa muscular n (%)			0,625**
Ausencia	14 (63,6)	9 (56,3)	
Leve (1 a 2 vasos afectados)	4 (18,2)	2 (12,5)	
Moderada (3 vasos afectados o más)	4 (18,2)	5 (31,1)	

Tabla 39. Hipertrofia de capa muscular en las vellosidades placentarias en preeclampsia. **Chi-cuadrado de Pearson.

	Pretérmino (n= 22)	Término (n= 16)	p
Aterosis (macrófagos espumosos en pared vascular) n (%)			0,349**
Ausencia	10 (45,5)	10 (62,5)	
Leve (1 a 2 vasos afectados)	10 (45,5)	6 (37,59)	
Moderada (3 vasos afectados o más)	2 (9,1)	0 (0)	

Tabla 40. Distribución de la aterosis aguda en grupos de placentas con preeclampsia.**Chi-cuadrado de Pearson.

Necrosis fibrinoide: La necrosis fibrinoide estuvo presente en los casos de PPT con 45,4% en comparación con el 25,1% de los casos de PT. El grado de afectación por este cambio en ambos grupos de preeclampsia fue catalogado como leve en la mayor parte de los casos. Se observó un mayor grado de afectación de tipo moderado en el grupo PPT (Tabla 41 y gráfico 8).

	Pretérmino (n= 22)	Término (n= 16)	p
Necrosis fibrinoide n (%)			0,429**
Ausencia	12 (54,5)	12 (75)	
Leve (1 a 2 vasos afectados)	7 (31,8)	3 (18,8)	
Moderada (3 vasos afectados o más)	3 (13,6)	1 (6,3)	

Tabla 41. Distribución del grado de afectación de necrosis fibrinoide en los grupos de preeclampsia.**Chi-cuadrado de Pearson.

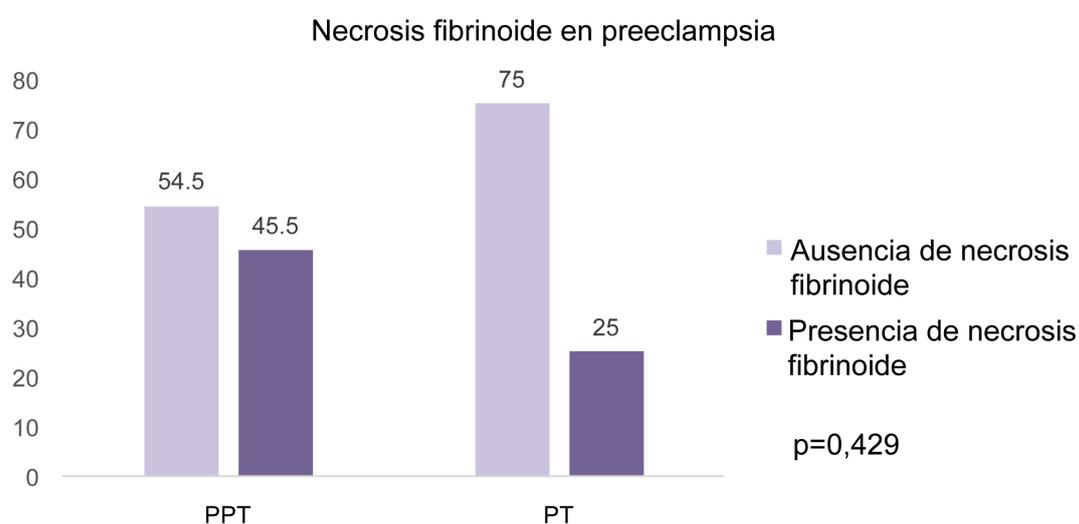


Gráfico 8. Necrosis fibrinoide en preeclampsia (%).

Otros tipos de daño vascular: El grupo de PPT mostró ligero predominio de mayor afectación por otros tipos de daño vascular, en el 36,8% (n= 8) en PPT y 25% (n= 4) en PT (p= 0,492). Predominó la vacuolización endotelial y presencia de celularidad inflamatoria en ambos grupos (Tabla 42). En relación al grado de otro tipo de daño vascular, predominó un grado leve en los dos grupos (Tabla 43).

	PPT (n= 22)	PT (n= 16)	p
Otros tipos de daño vascular n (%)			0,492*
Ausencia	14 (63,6)	12 (75)	
Vacuolización endotelial	4 (18,2)	3 (18,8)	
Edema	3 (13,6)	0 (0)	
Inflamación mural	1 (4,5)	1 (6,3)	
Villitis (inflamación de la vellosidad)	0 (0)	0 (0)	
Reducción de luz vasos fetales	0 (0)	0 (0)	

Tabla 42. Distribución de los casos de otros tipos de daño vascular en preeclampsia. PPT: preeclampsia pretérmino. PT: preeclampsia a término. **Chi-cuadrado de Pearson.

	PPT (n= 22)	PT (n= 16)	p
Grados de otros tipos de daño vascular n (%)			0,305*
Ausencia	14 (63,39)	12 (75)	
Leve (1 a 2 vasos afectados)	5 (22,7)	4 (25)	
Moderada (3 vasos afectados o más)	3 (15,6)	0 (0)	

Tabla 43. Grado de daño vascular en los grupos de preeclampsia. PPT: preeclampsia pretérmino. PT: preeclampsia a término. **Chi-cuadrado de Pearson.

Fibrina: Tanto en el grupo de placentas PPT como en el grupo PT mostraron abundante presencia de fibrina, hallazgo que se encontró en el 96,5% y 100% respectivamente (p= 0,579). En el grupo PT se observó que el 50% de casos mostró depósito de fibrina moderado (entre el 30% y el 50%) y en el grupo PPT el 54,5% mostró predominio de afectación leve (<30%). Únicamente las placentas PT mostraron depósito de fibrina mayor al 50% en el 6,39% de casos (p= 0,031)(Gráfico 9).

Trombosis: La trombosis u oclusión de vasos sanguíneos fue un hallazgo infrecuente en ambos grupos, predominando su ausencia (95,5% y 100% en PPT y PT respectivamente p= 0,579). Únicamente en el grupo PPT se encontró un caso.

Infartos: Este hallazgo fue similar tanto en las placentas pretérmino con el 54,5%, como en las

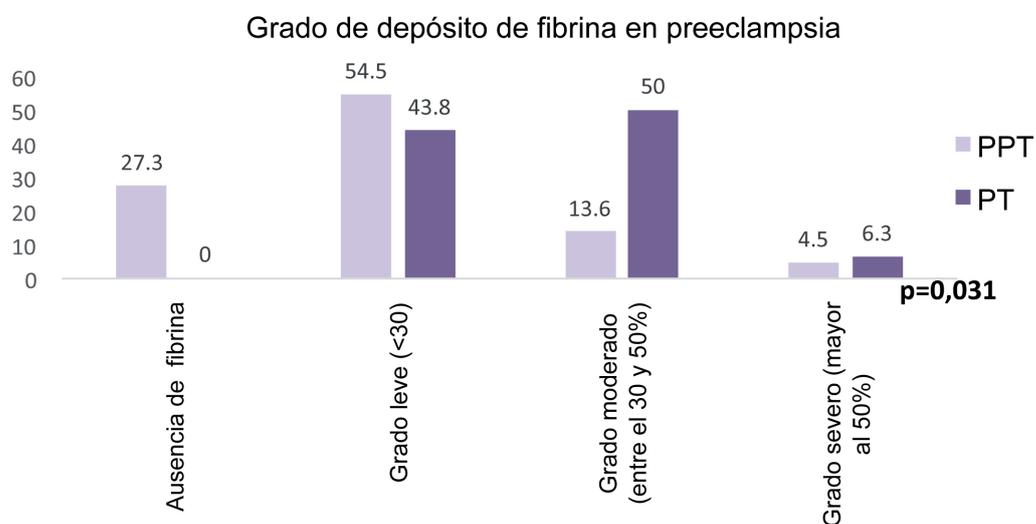


Gráfico 9. Grado de depósito de fibrina en preeclampsia (%).

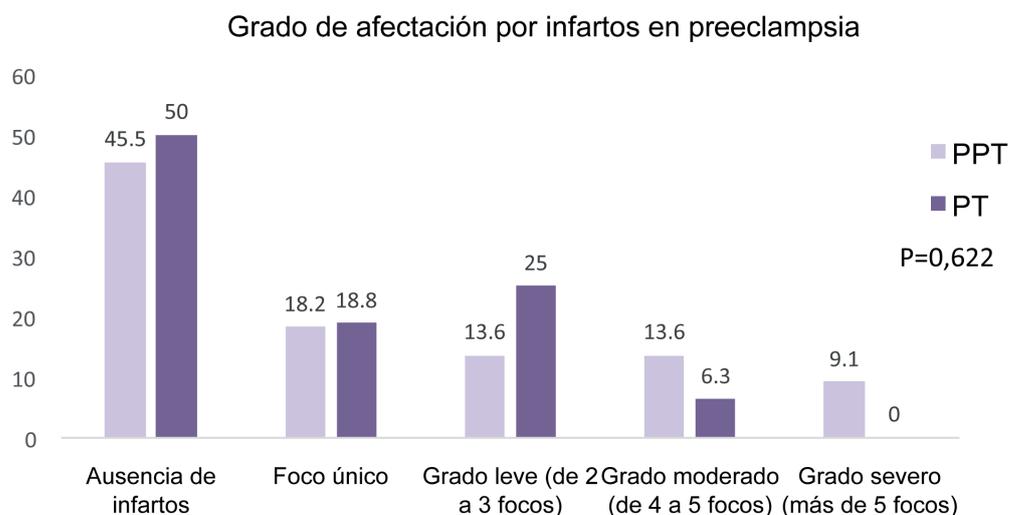


Gráfico 10. Grado de afectación por infartos en preeclampsia (%).

PT en el 56,3% ($p=0,590$). La media del número de infartos en el grupo PPT fue de 1,91 (SD 2,86) y la del grupo PT de 1,13 (SD= 1,40). El número de infartos también mostró una distribución sin grandes cambios entre los dos grupos de preeclampsia, encontrándose un ligero aumento en el número de infartos con afectación moderada (de 4 a 5 focos de infarto) en el grupo de PPT con 13,6% de los casos en comparación con el 6,3% de los casos PT.

Observamos una afectación severa con más de 5 focos de infarto en el 9,1% de los casos PPT en comparación con el grupo de placentas PT en los que no se encontró ningún caso ($p=0,622$). La mayoría de los infartos en ambos grupos fueron centrales (54,5% en PPT y 50% en PT, $p=0,492$) (Gráfico 10). Únicamente el grupo PT mostró infartos periféricos. Los infartos agudos fueron más frecuentes en el grupo PPT con 18,2% en comparación con el 6,3% de casos en el grupo PT. Los infartos crónicos se encontraron predominantemente en placentas PT (25% versus 18,2%, $p=0,741$).

Nodos sincitiales: Todos los casos de placentas con preeclampsia mostraron nodos sincitiales confirmando que este hallazgo histopatológico es muy frecuente en las placentas independientemente de las semanas de gestación. Sin embargo, el grado de afectación mostró diferencias, siendo mayor al 50% en el grupo PPT en comparación con el grupo PT (22,7% y 6,3%, respectivamente; $p=0,031$). Las placentas PT mostraron tendencia a la afectación moderada en el 75% versus 31,8% en el grupo PPT (entre el 30 y el 50%) y las placentas PPT mostraron predominantemente afectación leve ($<30\%$) y moderada (31,8% y 22,7% en PPT versus 18,8% y 6,3% en PT, $p=0,031$) (Gráfico 11).

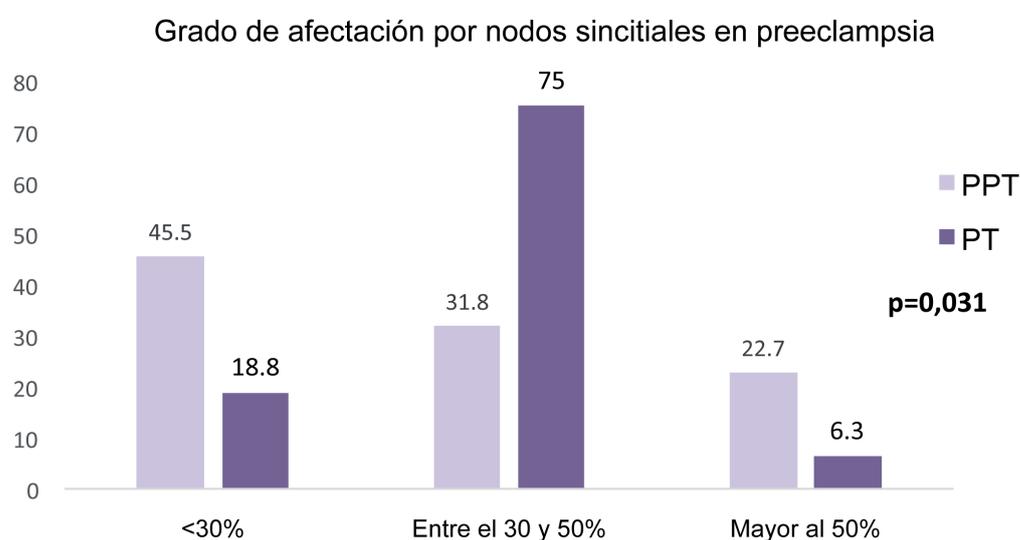


Gráfico 11. Grado de afectación por nodos sincitiales en preeclampsia (%).

Hipervascularización vellositaria: No se encontraron diferencias significativas en la hipervascularización vellositaria entre los dos grupos de placentas con preeclampsia, ya que ambos grupos mostraron una hipervascularización alta (72,7% y 75% en PPT y PT, respectivamente; $p=0,589$).

Corangiosis: Se encontró un mayor número de casos con corangiosis en el grupo PT en comparación con el grupo PPT (25% versus 13,6%, respectivamente; $p= 0,317$). El grado de corangiosis fue muy similar en ambos grupos en su forma leve (13,6% en PPT y 12,5% en PT; $p= 0,234$), y mostró mayor predominio en su forma moderada en el grupo PT (12,5% versus 0%).

Células de Hofbauer: El grupo PPT mostró presencia de un incremento de las células de Hofbauer del 50% en comparación con un incremento del 6,3% en el grupo PT ($p= 0,004$). La existencia de mayor estroma en las vellosidades de las placentas PPT con preeclampsia facilitan la identificación microscópica de estas células (Gráfico 12).

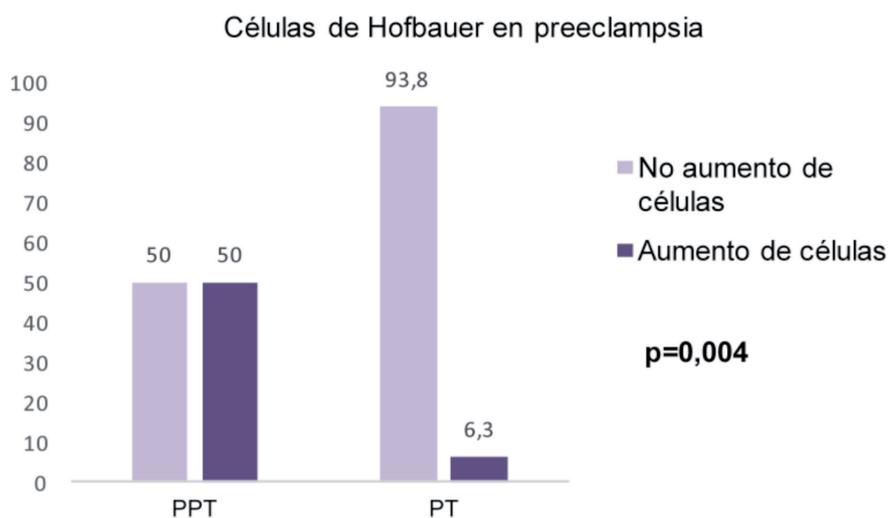


Gráfico 12. Células de Hofbauer en preeclampsia (%).

Inflamación: Las placentas PPT mostraron una presencia de inflamación en el 22,7%, y las del grupo PT en el 18,9% ($p= 0,485$). La inflamación aguda fue mayor en el grupo PPT con el 18,2% de los casos y de 6,3% en el grupo PT. La inflamación crónica fue del 4,5% y 6,3% en PPT y PT, respectivamente. El número de focos inflamatorios fue más mayor en el grupo PT ($p= 0,225$) (Gráfico 13).

La inflamación se evidenció en diversas localizaciones como se recoge en la Tabla 44.

Estroma vellositario: Las placentas PPT mostraron cambios estromales en el 63,6% y las PT en el 56,2% ($p= 0,004$) (Gráfico 14). Los tipos de cambios estromales en PPT fueron predominantemente tipo edema y en PT fibrosis estromal vellositaria (Gráfico 15). Las PPT mostraron cambios leves en el

31,8% y de tipo moderado en el 3,8% y en el grupo PT fueron de tipo leve y moderado en el 31,3 y 12,5%. Únicamente el grupo PT mostró cambios severos a nivel estromal $p=0,227$.

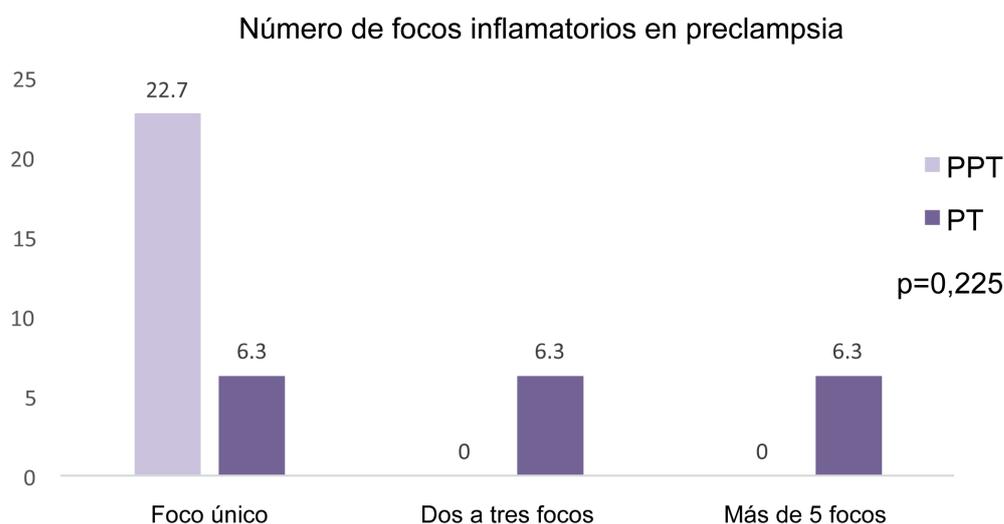


Gráfico 13. Número de focos inflamatorios en preeclampsia (%).

	PPT (n= 22)	PT (n= 16)	p
Localización de la inflamación n (%)			0,701**
Ausencia de inflamación	17 (77,3)	13 (81,39)	
Vellosidades	1 (4,5)	0 (0)	
Decidua	2 (9,1)	1 (6,3)	
Membranas	0 (0)	1 (6,3)	
Vasos de decidua	1 (4,5)	0 (0)	
Vasos fetales	1 (4,5)	1 (6,3)	

Tabla 44. Localización de la inflamación en grupos con preeclampsia. PPT: preeclampsia pretérmino. PT: preeclampsia a término. **Chi-cuadrado de Pearson.

Calcificaciones: Las calcificaciones se identificaron de forma mucho más notoria en el grupo PT con 93,8% y fueron del 50% en los casos de PPT ($p=0,004$). Las calcificaciones se distribuyeron predominantemente en la decidua, vasos sanguíneos y vellosidades en el grupo PPT (22,79%, 9,1% y 4,5%, respectivamente) y en el grupo PT afectaron en mayor medida a las zonas de depósito de fibrina y vellosidades (37,5% y 18,8%, $p=0,002$). En este último grupo no se observaron calcificaciones en los vasos sanguíneos y la decidua mostró escaso depósito de calcificaciones (6,3%). El grado

de calcificaciones en el grupo PPT se presentó de forma leve en el 45,5% y en el 4,5% de forma moderada, contrastando con el grupo PT que mostró 68,8% y 25% en la forma leve y moderada, respectivamente ($p= 0,009$) (Gráfico 16).

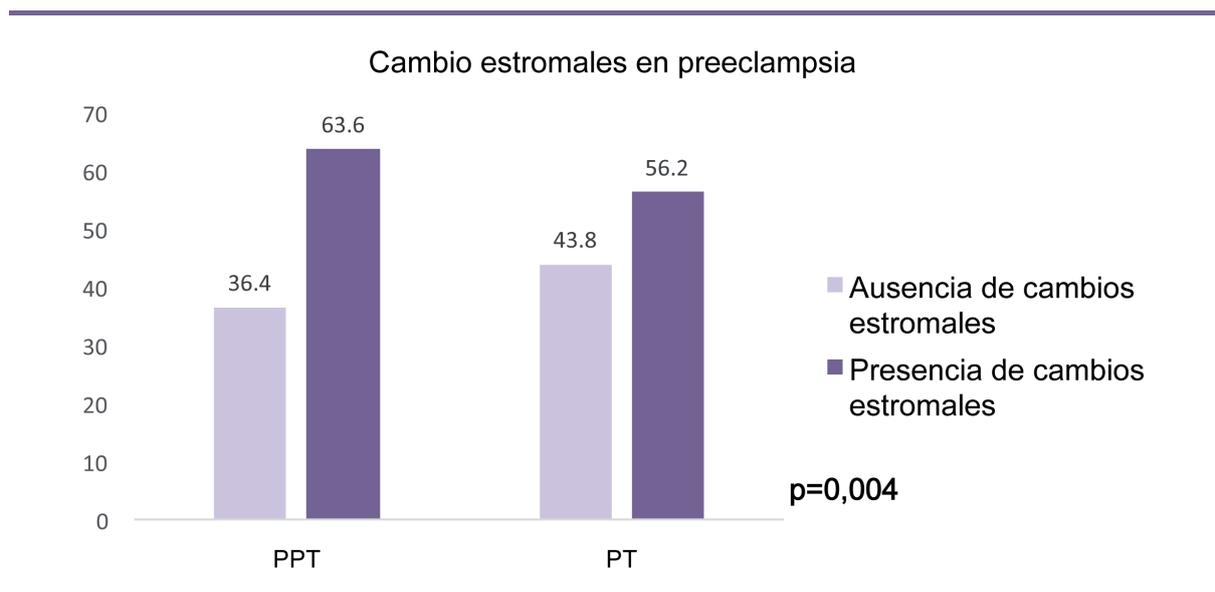


Gráfico 14. Cambios estromales en preeclampsia (%).

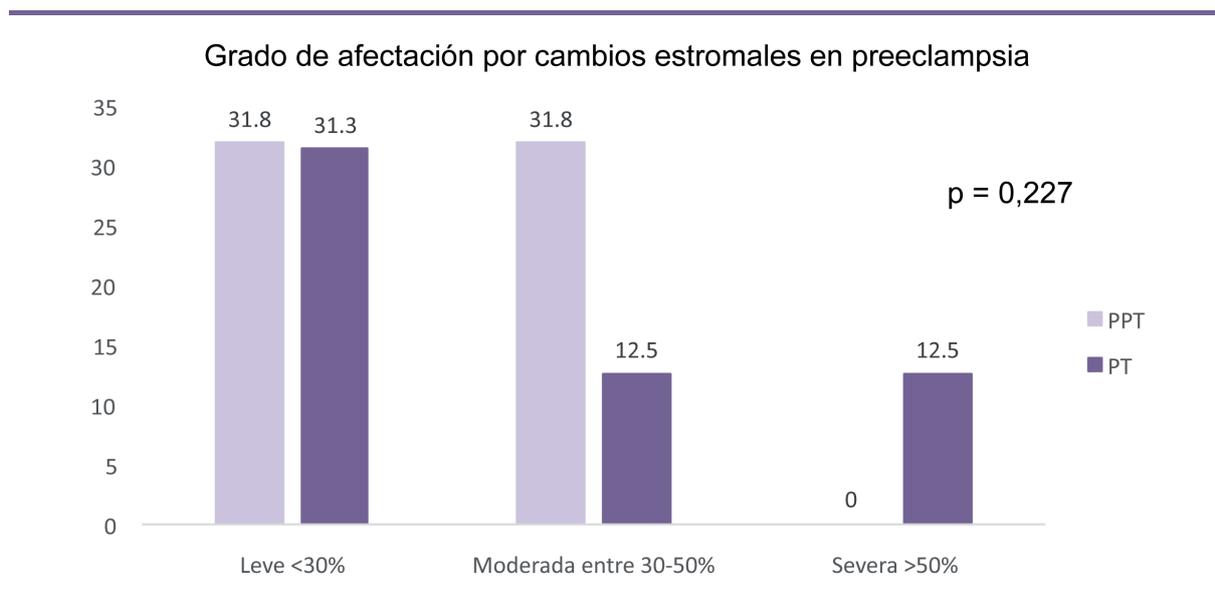


Gráfico 15. Grado de afectación por los cambios estromales en placentas con preeclampsia (%).

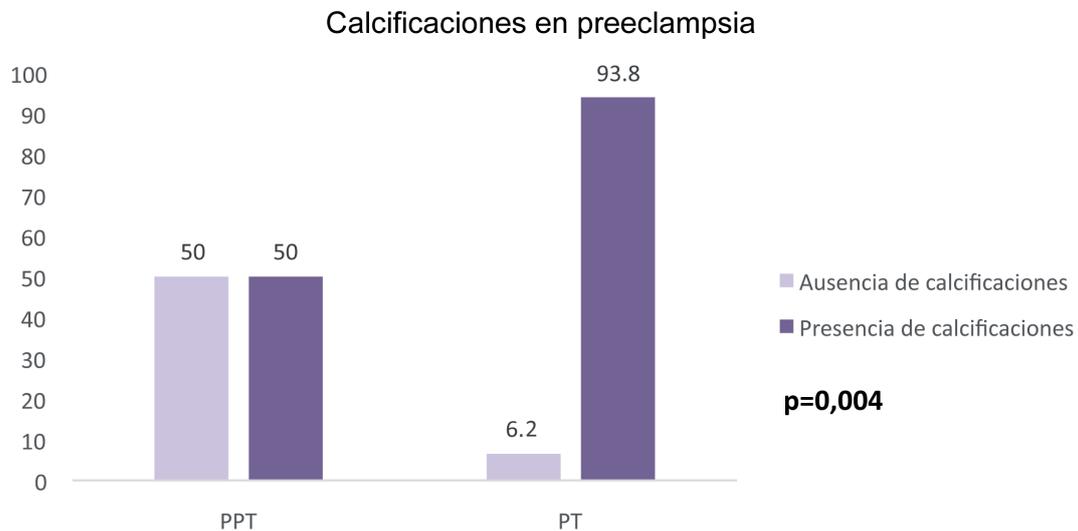


Gráfico 16. Calcificaciones en preeclampsia (%).

Apoptosis evaluada mediante hematoxilina y eosina: La apoptosis fue mayor en el grupo de PPT en comparación con el grupo PT (31,8% versus 18,8%, $p=0,301$) (Gráfico 17).

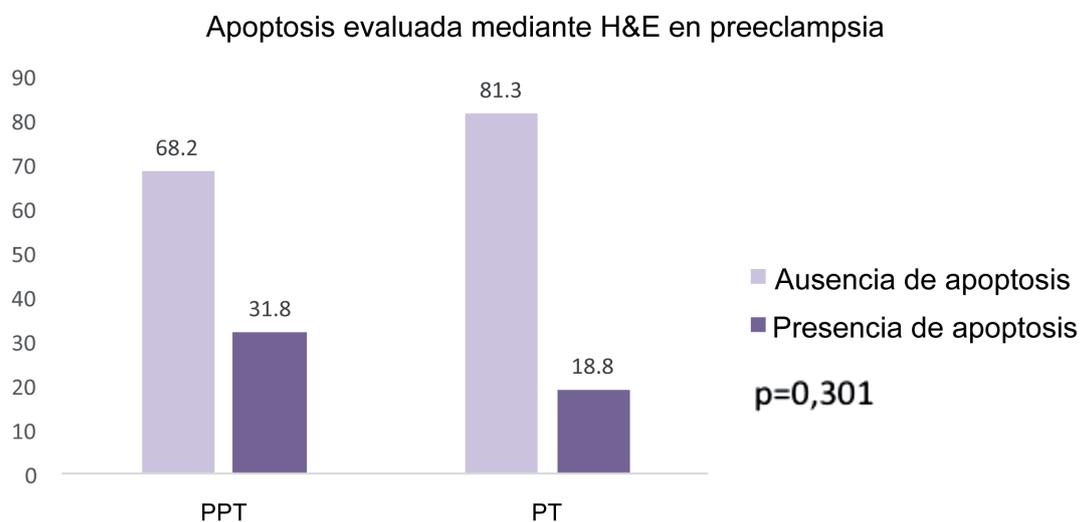


Gráfico 17. Apoptosis evaluada mediante tinción de hematoxilina y eosina (H&E) en preeclampsia (%).

Brotos sincitiales: Este cambio fue encontrado en el 59,1% y 81,3% de las placentas PPT y PT, respectivamente ($p=0,136$). El grado de brotes sincitiales en el grupo PPT fue leve y moderado en el 54,5% y 4,5% y en el grupo PT leve y moderado en el 37,5% y 37,5% ($p=0,035$) (Gráfico 18).

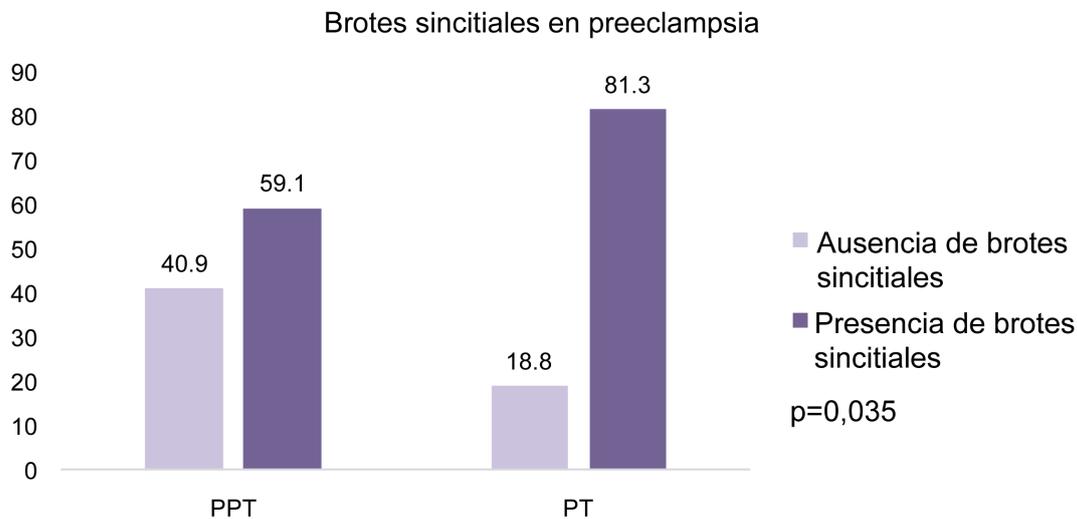


Gráfico 18. Brotos sincitiales en preeclampsia (%).

Puentes sincitiales: Los puentes sincitiales los observamos en una mayor proporción en el grupo PT (62,5% versus 40,9% en PPT; $p= 0,162$). El grado de puentes sincitiales en el grupo PPT de tipo leve y moderado fue del 36,9% y 4,5% respectivamente y en el grupo PT de 56,3% y 6,3% de tipo leve y moderado, respectivamente ($p= 0,420$) (Gráfico 19).

Inflamación de los vasos fetales: La inflamación o presencia de actividad inflamatoria localizada en los vasos fetales no fue un hallazgo común en ambos grupos de estudios (4,5% ($n= 1$) y 12,5% ($n= 2$) en PPT y PT, respectivamente ($p= 0,379$).

Placentación deficiente: Este cambio fue observado en el 77,3% de los casos PPT y en el 50% de los casos PT ($p= 0,081$) (Gráfico 20).

4.6. Grado de expresión e intensidad inmunohistoquímica de p21 y p53 en placentas de embarazo normal y placentas con preeclampsia

Tras evaluar las características de inmunohistoquímica para los marcadores p53 y p21 tales como intensidad (0= ausencia de tinción, 1= débil, 2= moderada, 3= marcada), y expresión tras la visualización de la totalidad de la preparación (0= ausencia, 1= <10%, 2= entre el 10 y el 50%, 3= >50%) los resultados obtenidos se describen a continuación. Para la evaluación de la inmunohistoquímica cabe

recordar que la capa más externa de las vellosidades placentarias es el sinciotrofoblasto (ST) y la capa más interna el citotrofoblasto (CT).

4.6.1. Grado de expresión e intensidad inmunohistoquímica de p53 en placentas de embarazo normal y placentas con preeclampsia

p53: A continuación se exponen los resultados de la valoración de inmunohistoquímica de p53

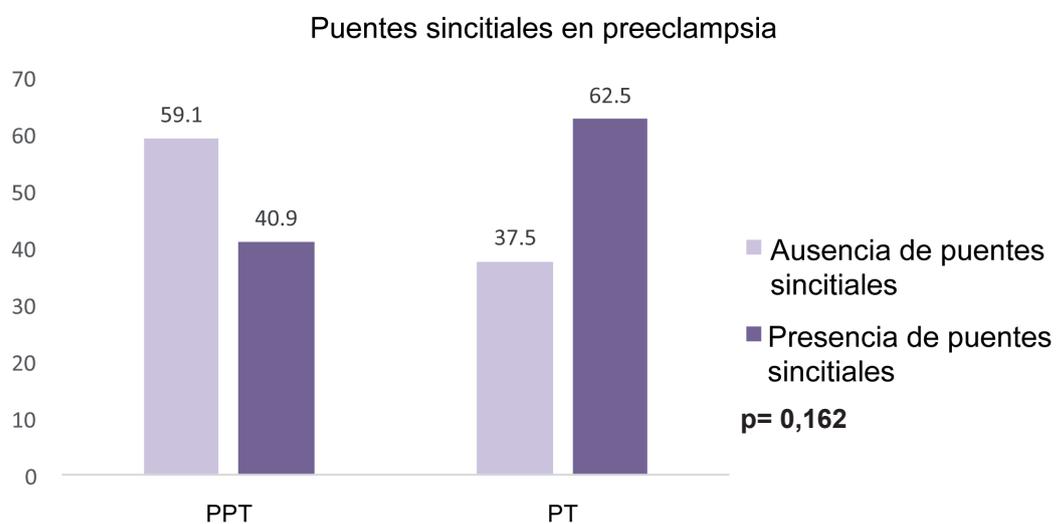


Gráfico 19. Puentes sincitiales en preeclampsia (%).

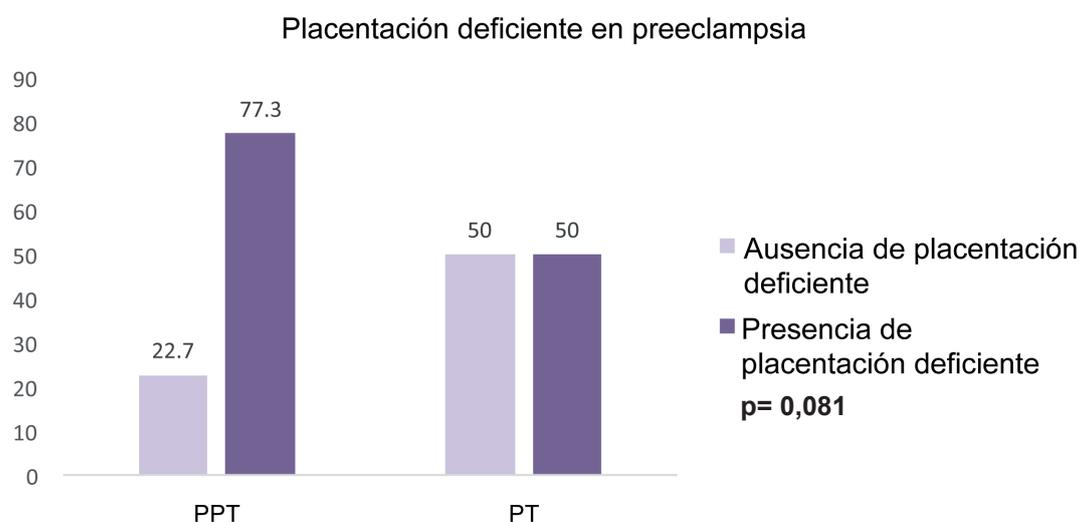


Gráfico 20. Placentación deficiente en grupo con preeclampsia(%).

Intensidad de la p53 en embarazo normal y en placentas con preeclampsia									
	Normal				Preeclampsia				p
	0% (n)	1% (n)	2% (n)	3% (n)	0% (n)	1% (n)	2% (n)	3% (n)	
CT	0 (0)	73,3 (11)	26,7 (4)	0 (0)	0 (0)	28,9 (11)	36,8 (14)	34,4 (13)	0,005**
ST	73,3 (11)	23,7 (4)	0 (0)	0 (0)	93,1 (35)	7,9 (39)	0 (0)	0 (0)	0,090**
Estroma de vellosidades	100 (15)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	97,4 (37)	0 (0)	2,6 (1)		0,717**
Decidua	60 (9)	6,7 (6)	13,3 (2)	20 (3)	86,8 (33)	7,9 (3)	0 (0)	5,3 (2)	0,036**
Nodos	100 (15)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	98,1(37)		1,9 (1)		0,717**

Tabla 45. Intensidad de la p53 en embarazo normal y placentas con preeclampsia. CT: citotrofoblasto, ST: sincitiotrofoblasto. 0= ausencia de tinción, 1= tinción intensidad débil, 2= tinción intensidad moderada y 3= tinción marcada. **Chi-cuadrado de Pearson.

en placentas con embarazo normal y preeclampsia (Tablas 45 y 46).

Intensidad de la p53 en en citotrofoblasto: Todas las placentas de ambos grupos fueron inmunoreactivas para p53, ya que ningún caso tuvo ausencia de tinción. Se observó mayor intensidad en el grupo con preeclampsia (Gráfico 21). En las figuras 43 y 44, se observan imágenes de una sección histológica de una preparación de inmunohistoquímica con p53 en una placenta producto de embarazo normal (grupo control).

La tinción para la p53 en el citotrofoblasto fue positiva en la totalidad de casos de ambos grupos (control y preeclampsia), sin que se identificara ningún caso negativo. Sin embargo, en el grupo de placentas producto de embarazo normal la positividad fue escasa ya que el 93,3% se expresó en un porcentaje inferior al 10% del tejido evaluado, con muy pocos casos con expresión entre el 10 y el 50% (6,7%) y ninguno con expresión superior al 50%, esto contrastó con el grupo de preeclampsia, donde predominó la expresión entre el 10 y el 50% (50% n= 19), observándose además positividad superior al 50% en el 18,4% (p= 0,000) (Figuras 45 y 46). En la preeclampsia se encontró una menor expresión en el grupo <10% que en el grupo control con el 31,6% (Gráfico 22).

Sincitiotrofoblasto: La intensidad para la p53 en el ST mostró diferencias importantes con el citotrofoblasto. En el sincitiotrofoblasto predominó la ausencia de tinción para p53 en ambos grupos con ausencia de positividad del 73,3% (n= 11) y 92,1% (n= 35) en el grupo control de embarazo normal y en el grupo con preeclampsia, respectivamente (p= 0,090). En algunos casos de ambos grupos observamos tinción débil (Figura 47). No se encontró tinción moderada ni intensa en ninguno de los grupos. En rela-

ción a la cuantificación de la expresión en porcentaje los resultados fueron muy similares (Gráfico 23 y 24).

Nodos sincitiales: Ningún caso mostró positividad de tinción en el grupo control. También la mayor parte de casos del grupo con preeclampsia fueron negativos (98,1%), pero en el 1,9% de este último grupo observamos tinción de tipo moderado centrado en los núcleos de los nodos sincitiales (Figura 48).

Estroma vellositario: La mayor parte de los casos de ambos grupos mostró ausencia de tinción para p53 (100% del grupo control y el 97,4% del grupo con preeclampsia). Únicamente en un caso del grupo con preeclampsia se observó tinción del estroma ($p=0,717$).

Grado de expresión inmunohistoquímica de la p53 en embarazo normal y en placentas con preeclampsia									
	Ausencia de tinción % (n)	Normal			Preeclampsia				p
		<10% (n)	Del 10 al 50% (n)	>50% (n)	Ausencia de tinción % (n)	<10% (n)	Del 10 al 50% (n)	>50% (n)	
CT	0 (0)	93,3 (14)	6,7 (1)	0 (0)	0 (0)	31,6 (12)	50 (19)	18,4 (7)	0,000**
ST	73,3 (11)	23,7 (4)	0 (0)	0 (0)	92,1 (35)	7,9 (3)	0 (0)	0 (0)	0,090**
Estroma de vellosidades									
	100 (15)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	97,4 (37)	0 (0)	1,9 (1)	0 (0)	0,717**
Decidua	60 (9)	40 (6)	0 (0)	0 (0)	86,8 (33)	13,2 (5)	0 (0)		0,040**
Nodos	100 (15)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	98,1 (37)		1,9 (1)		0,717**

Tabla 46. Grado de expresión inmunohistoquímica de la p53 en embarazo normal y placentas con preeclampsia. CT: citotrofoblasto, ST: sincitiotrofoblasto. **Chi-cuadrado de Pearson.

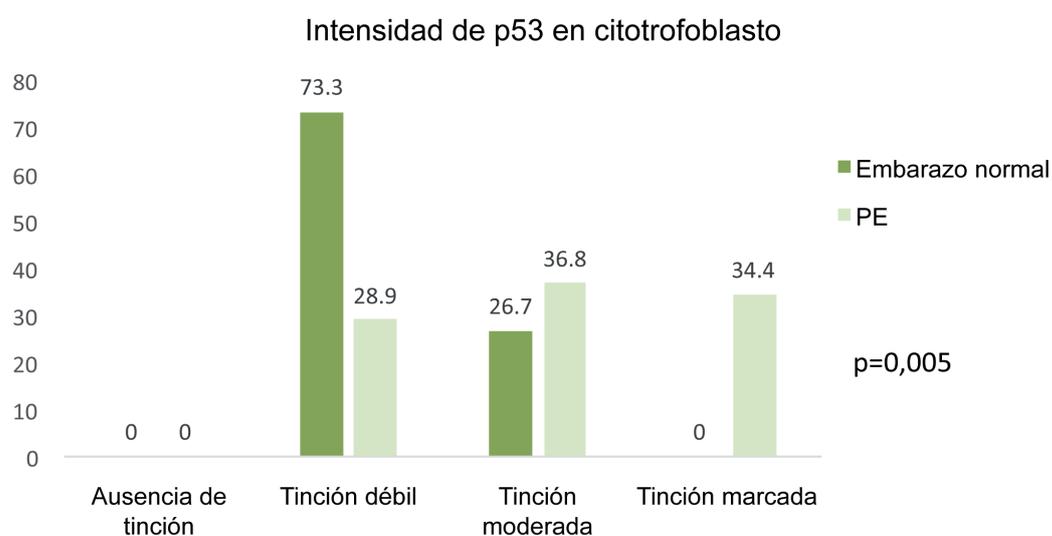


Gráfico 21. Intensidad de p53 en citotrofoblasto de ambos grupos (%).

Estroma no vellositario: Predominó la ausencia de tinción en ambos grupos, con presencia de tinción para p53 en el 6,7% y 2,6% del grupo control y grupo con preeclampsia, respectivamente ($p=0,490$).

Decidua: El grupo control mostró mayor positividad para p53 que en el grupo con preeclampsia 40% y 13,2%, respectivamente ($p=0,040$). En el grupo control la mayoría de los casos mostró intensidad débil presentando algunos casos mayor intensidad (Figura 49).

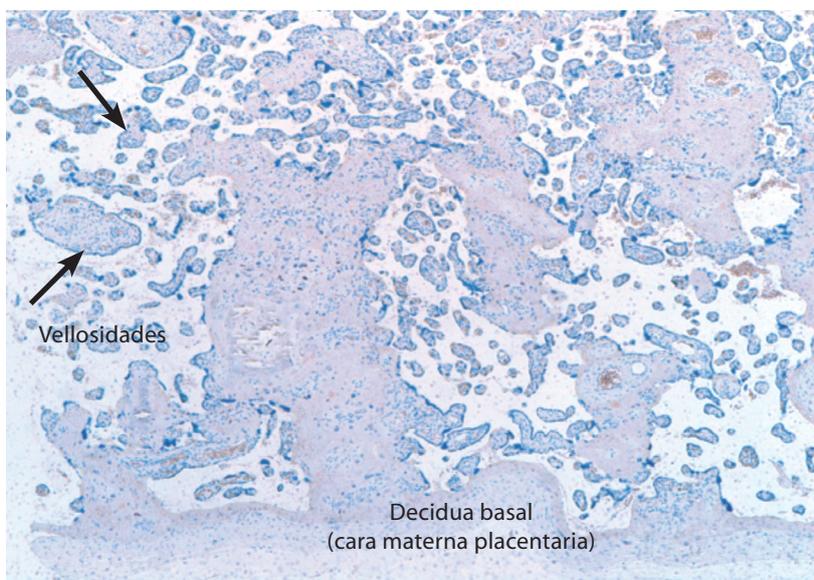


Figura 43. Sección histológica completa del disco placentario, que incluye la presencia de una zona donde se identifica la decidua basal (cara materna de placenta) en la porción inferior y numerosas vellosidades terminales (flechas) de pequeño tamaño en una placenta del tercer trimestre de un embarazo normal. Preparación de inmunohistoquímica con p53 a 4x.

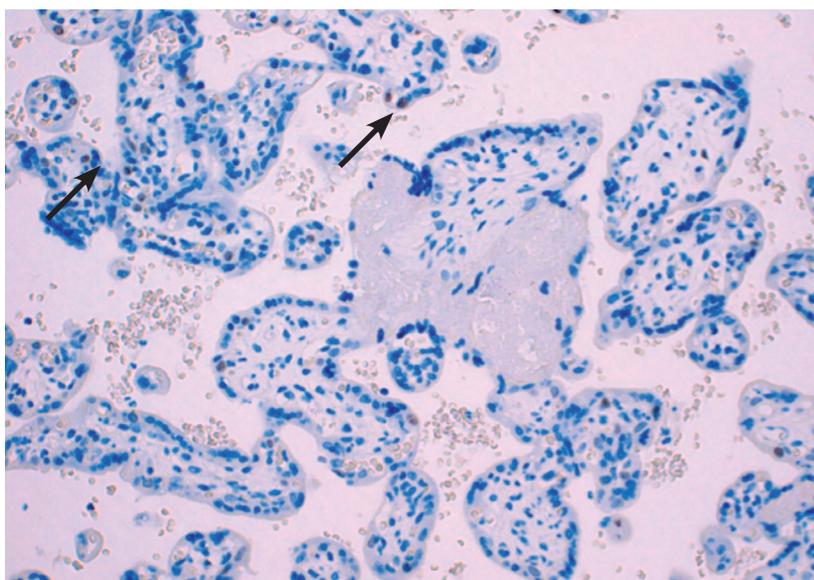


Figura 44. Tinción de p53 débil en el núcleo de algunas células del citotrofoblasto en placenta del tercer trimestre de embarazo normal. Este fue el hallazgo más común en este grupo. Preparación de inmunohistoquímica teñida con p53 a 10x.

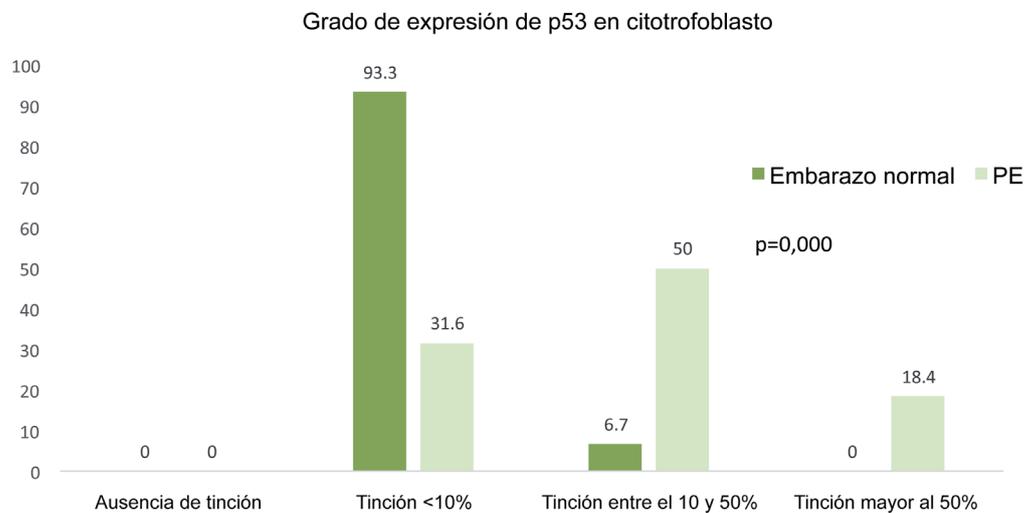


Gráfico 22. Grado de expresión de p53 en el citotrofoblasto (%).

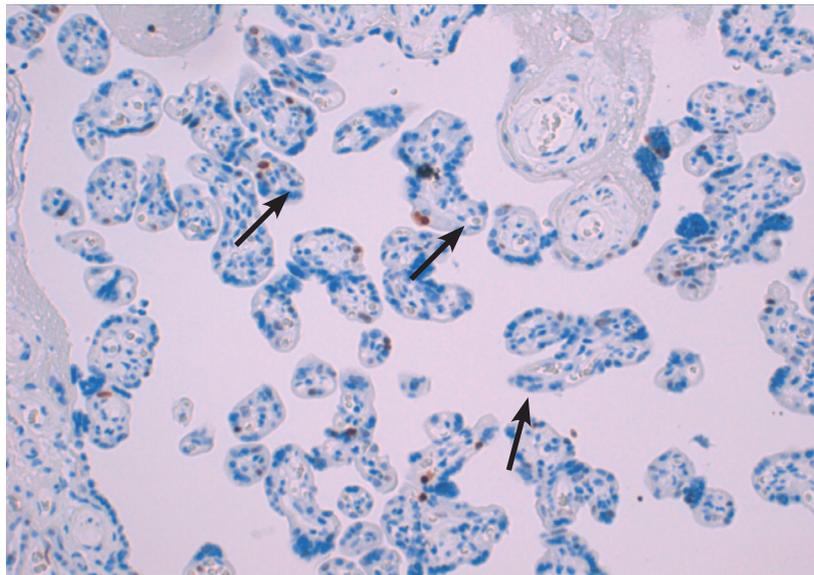


Figura 45. Tinción de p53 de intensidad moderada en núcleos de células del citotrofoblasto (capa interna de epitelio de la vellosidad). Placenta con preeclampsia a término preparación teñida con inmunohistoquímica para p53 a 20X.

De los datos de inmunohistoquímica expuestos se puede concluir que en este estudio la tinción para la p53 en el citotrofoblasto fue muy evidente en todos los casos estudiados tanto del grupo control como del grupo con preeclampsia, sin embargo, se encontró una clara tendencia a mayor intensidad de tinción y mayor expresión en el tejido estudiado en el grupo de preeclampsia que en el grupo control de placentas producto de embarazo normal. La tinción de inmunohistoquímica para el sin-

citiotrofoblasto en ambos grupos fue muy escasa, identificándose en ambos grupos un predominio de ausencia de tinción, con intensidad débil y aislada únicamente en el grupo con preeclampsia. Los nodos sincitiales mostraron escasa tinción. Fue llamativa la positividad de p53 en la decidua del grupo de placentas con embarazo normal del grupo control.

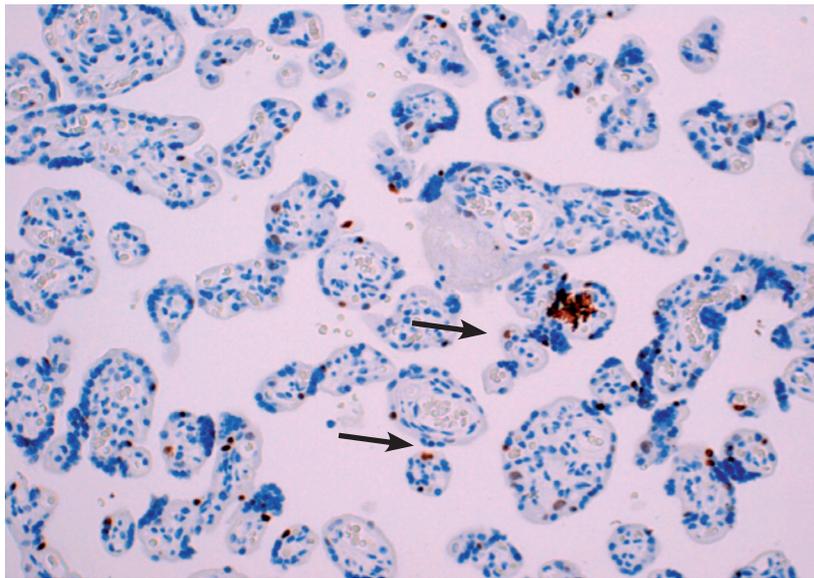


Figura 46. Tinción de intensidad marcada de p53 en los núcleos de las células del citotrofoblasto. Preparación de inmunohistoquímica teñida con p53 en placenta con preeclampsia pretérmino. a 20X.

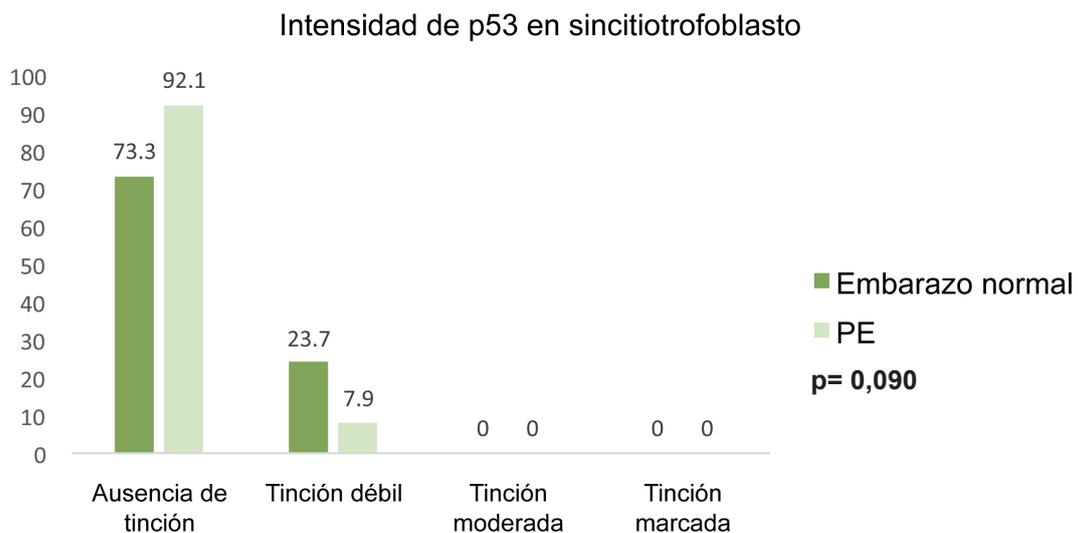


Gráfico 23. Intensidad de p53 en el sincitiotrofoblasto (%).

4.6.2. Grado de expresión e intensidad inmunohistoquímica de p21 en placentas de embarazo normal y placentas con preeclampsia

A continuación se presentan los resultados obtenidos con la inmunohistoquímica para p21 en relación a intensidad y porcentaje o grado de expresión en diferentes localizaciones (Tablas 46 y 47).

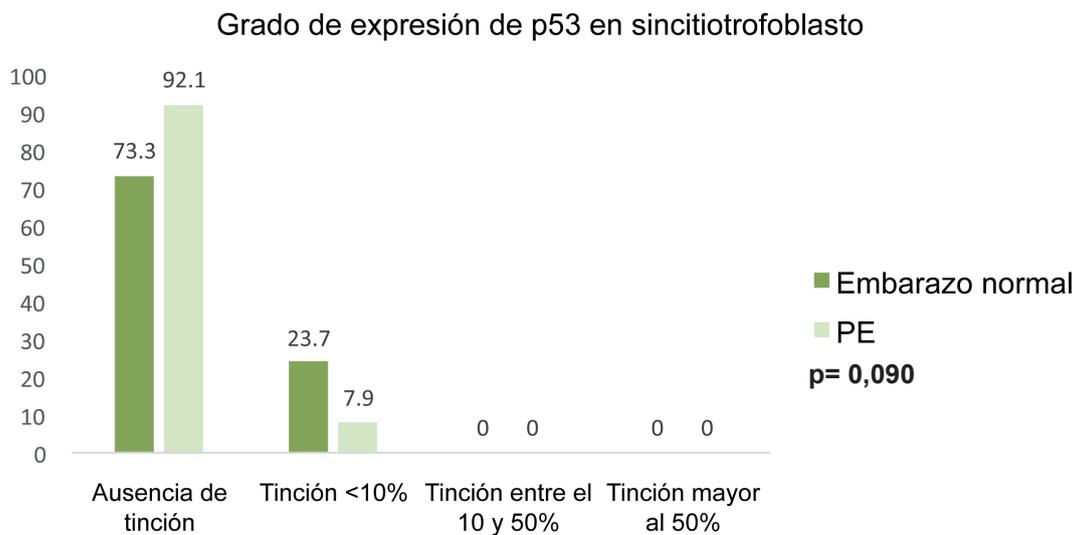


Gráfico 24. Grado de expresión de p53 en sincitiotrofoblasto (%).

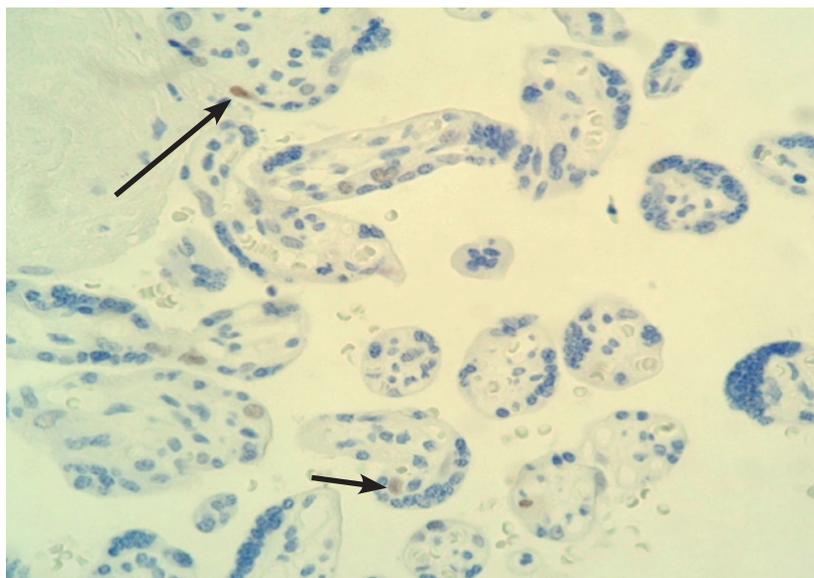


Figura 47. Tinción de intensidad muy débil y apenas perceptible de p53 en escasos núcleos de las células del sincitiotrofoblasto (Flecha larga: revestimiento epitelial más externo de la vellosidad terminal) y del citotrofoblasto (Flecha corta: revestimiento epitelial interno de la vellosidad). Preparación de inmunohistoquímica con p53 en placenta a término de embarazo normal a 20X.

Intensidad de p21 en citotrofoblasto: Todas las placentas de ambos grupos mostraron presencia de tinción nuclear para p21 en el citotrofoblasto (CT). Además en ambos rangos se identificaron grados de intensidad débil, moderada y marcada. Sin embargo, el grupo con preeclampsia mostró mayor número de casos con intensidad moderada y marcada. El CT del grupo control mostró una positividad de

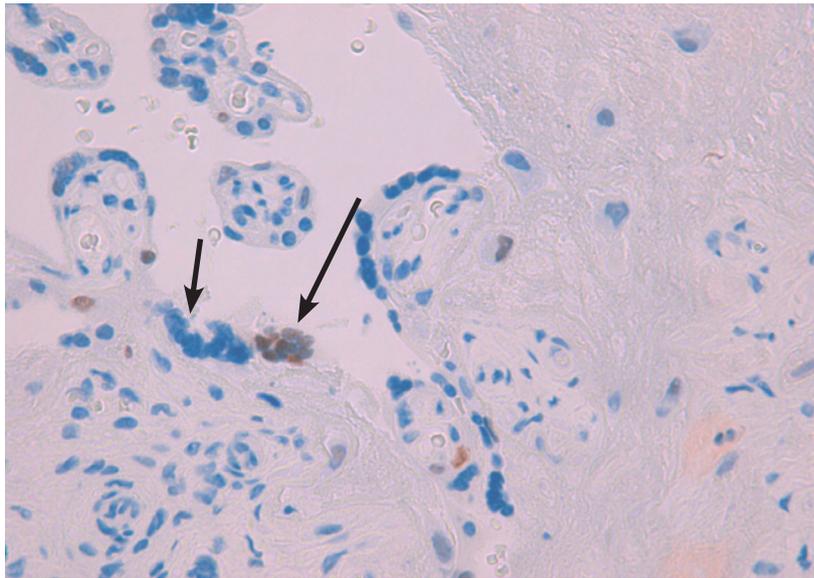


Figura 48. Flecha larga: Tinción de intensidad débil de p53 en los núcleos de un nodo sincitial (agrupación de núcleos del sincitiotrofoblasto en la superficie externa de la vellosidad). Flecha corta: Ausencia de tinción de p53 en un nodo sincitial. Preparación de inmunohistoquímica con p53 en placenta con preeclampsia pretérmino. a 20X.

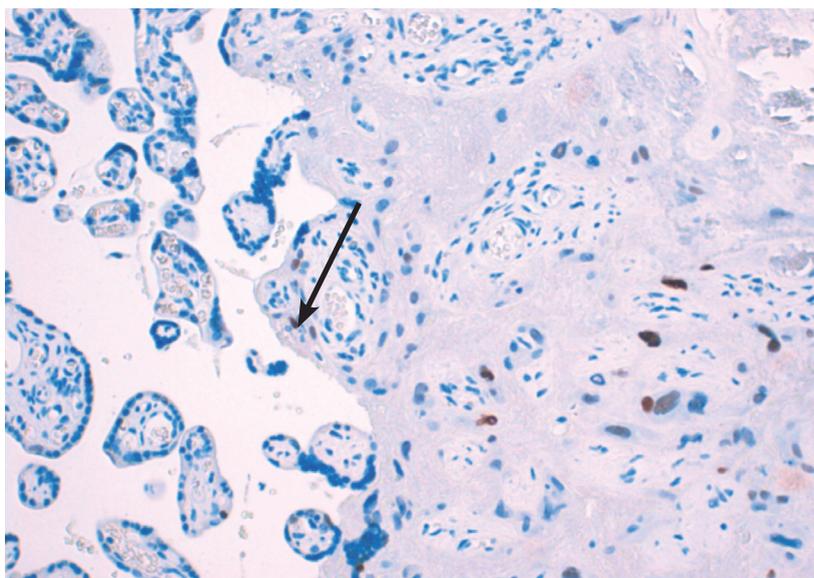


Figura 49. Tinción de intensidad marcada en los núcleos de p53 de células de la decidua basal. Preparación de inmunohistoquímica teñida con p53 de un caso control de embarazo normal a 20X.

intensidad débil en el 33,3%, moderada en el 46,7% y marcada en el 20% y el grupo con preeclampsia mostró intensidad débil en el 7,9%, moderada en el 36,8%, y marcada en el 55,3% ($p=0,020$) (Gráfico 25).

Expresión de p21 de citotrofoblasto: Aunque como se remarcó anteriormente todos los casos de ambos grupos mostraron positividad para este marcador, en el grupo con preeclampsia se observó una mayor expresión con positividad inferior al 10% en el 13,2%, entre el 10 y 50% en el 44,7% y superior al 50% en el 42,1% ($p=0,000$). El grupo control mostró expresión inferior al 10% en 73,3% y expresión entre el 10 y 50% en el 23,7%. Ningún caso control mostró expresión de más del 50% ($p=0,000$) (Gráfico 26 y figura 50).

Sincitiotrofoblasto (ST): En relación a la intensidad de p21 en el sincitiotrofoblasto de los embarazos normales se observó que la mayor parte de los casos mostraron tinción para p21 y únicamente el 6,7% no tuvo tinción. La intensidad fue predominantemente débil con 53,3% y moderada del 26,7%. Muy pocos casos tuvieron expresión intensa o marcada (13,3%). En el grupo con preeclampsia, todos los casos mostraron tinción. El 31,6% fue débil, observándose mayor intensidad de tipo moderada y marcada en el 31,6% y 36,8%, respectivamente ($p=0,115$) (Gráfico 27).

La expresión de p21 en el grupo control fue inferior al 10% en el 60% y del 33,3% entre el 10 y 50%. Ningún caso mostró expresión en mayor del 50% en el material examinado. El grupo con preeclampsia mostró en el 21,1%, 44,7% y 34,2% una expresión inferior al 10%, entre el 10 y el 50% y superior al 50%, respectivamente ($p=0,004$). Predominó la expresión débil en el grupo control sin evidencia de expresión en más del 50% del tejido examinado. En el grupo con preeclampsia observamos mayores grados de expresión moderada y marcada (Gráfico 28 y figura 51).

Intensidad de la p21 en embarazo normal y en placentas con preeclampsia									
	Normal				Preeclampsia				p
	0% (n)	1% (n)	2% (n)	3% (n)	0% (n)	1% (n)	2% (n)	3% (n)	
CT	0 (0)	33,3 (5)	46,7 (7)	20 (3)	0 (0)	7,9 (39)	36,8 (14)	55,3 (21)	0,020**
ST	6,7 (1)	53,3 (8)	26,7 (4)	13,3 (2)	0 (0)	31,6 (12)	31,6 (12)	36,8 (14)	0,115**
Estroma de									
vellosidades	66,7 (10)	33,3 (5)	0 (0)	0 (0)	68,4 (26)	36,1 (12)	0 (0)	0 (0)	0,574**
Decidua	46,7 (7)	20 (3)	13,3 (2)	20 (20)	65,8 (25)	21,1 (8)	5,3 (2)	7,9 (3)	0,395**
Nodos	46,7 (7)	33,3 (5)	0 (0)	20 (3)	36,8 (14)	31,6 (12)	18,4 (7)	13,2 (5)	0,338**

Tabla 47. Intensidad inmunohistoquímica de p21 en placentas control y con preeclampsia. CT: citotrofoblasto. ST: sincitiotrofoblasto. 0= ausencia de tinción, 1= tinción intensidad débil, 2= tinción intensidad moderada y 3= tinción marcada.

Grado de expresión inmunohistoquímica de la p21 en embarazo normal y en placentas con preeclampsia

	Ausencia de tinción % (n)	Normal			Preeclampsia			p	
		<10% (n)	Del 10 al 50% (n)	>50% (n)	Ausencia de tinción % (n)	<10% (n)	Del 10 al 50% (n)		>50% (n)
CT	0 (0)	73,3 (11)	23,7 (4)	0 (0)	0 (0)	13,2 (5)	44,7 (17)	42,1 (16)	0,000**
ST	6,7 (1)	60 (9)	33,3 (5)	0 (0)	0 (0)	21,1 (8)	44,7 (17)	34,2 (1)	0,004**
Estroma de vellosidades	66,7 (10)	33,3 (5)	0 (0)	0 (0)	68,4 (26)	31,6 (12)	0 (0)	0 (0)	0,574**
Decidua	46,7 (7)	53,3 (8)	0 (0)	0 (0)	65,8 (25)	34,2 (13)	0 (0)	0 (0)	0,215**
Nodos	46,7 (7)	53,3 (8)	0 (0)	0 (0)	36,8 (14)	57,9 (22)	5,3 (2)	0 (0)	0,580**

Tabla 48. Grado de expresión inmunohistoquímica de p21 en placentas con embarazo normal y con preeclampsia. CT: citotrofoblasto. ST: sincitiotrofoblasto.

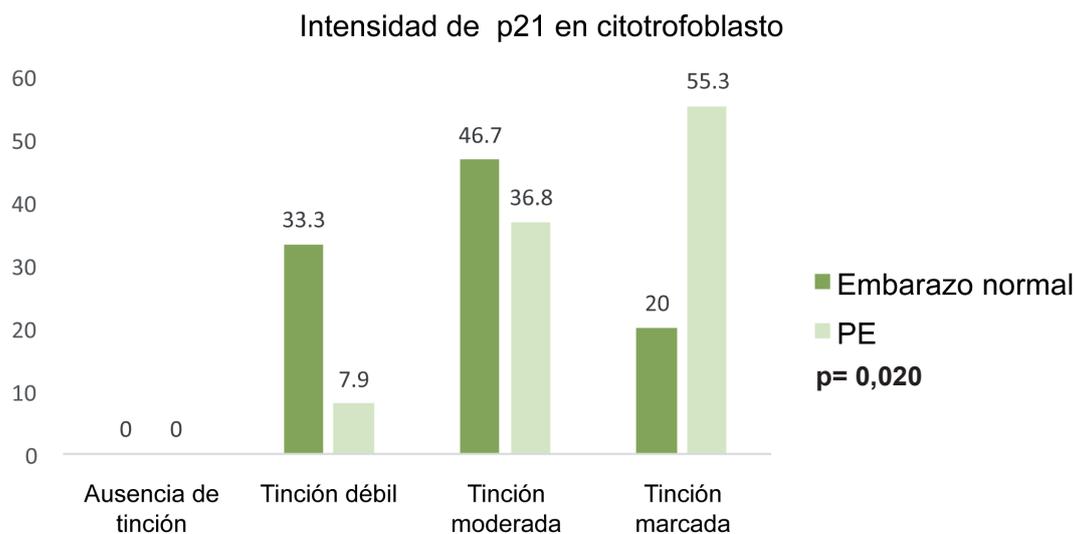


Gráfico 25. Intensidad de p21 en el citotrofoblasto.

mayor parte fue leve (33,3% y 31,6% en el grupo control y con preeclampsia, respectivamente). Los resultados fueron similares en cuanto a intensidad y extensión de expresión en el material estudiado.

Decidua: En la tinción inmunohistoquímica de p21 observamos diferentes grados de intensidad con intensidad débil, moderada y marcada en el 20%, 13,3% y 20% respectivamente, en el grupo control de embarazo normal (p= 0,395). En el grupo con preeclampsia se observó mayor intensidad de tipo débil y menor del grado moderado e intenso o marcado 21,1%, 5,3% y 7,9% respectivamente,

($p=0,395$) en comparación con el grupo control de embarazo normal. El 46,7% del grupo control y 65,8% del grupo con preeclampsia no mostró tinción de p21.

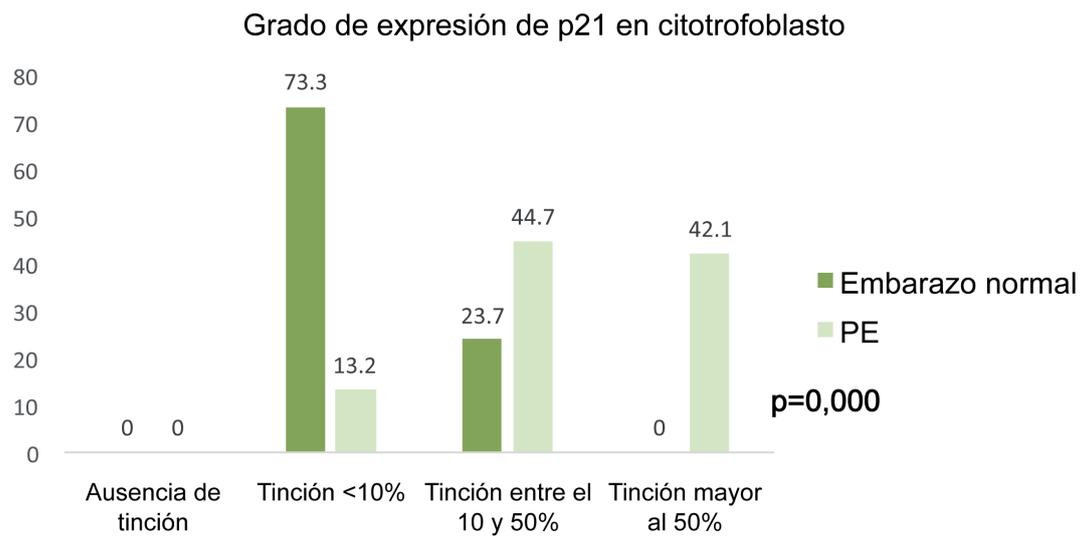


Gráfico 26. Grado de expresión de p21 en el citotrofoblasto.

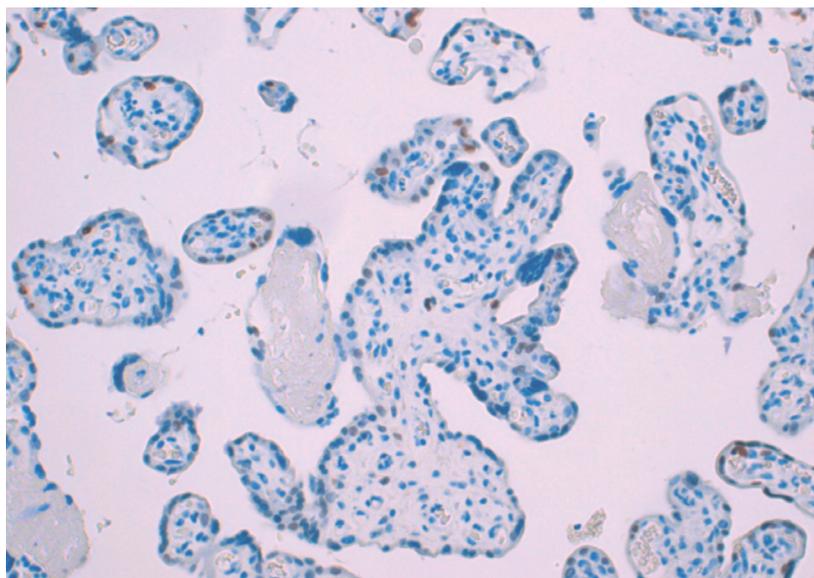


Figura 50. Tinción de intensidad moderada en los núcleos de las células del citotrofoblasto (capa epitelial interna de revestimiento de vellosidad). Preparación de inmunohistoquímica con p21 en placenta del grupo control con embarazo normal a término a 10x.

El grado de expresión de p21 en ambos grupos fue inferior al 10% en el 53,3% y el 34,2% en el grupo control y de preeclampsia, respectivamente).

Nodos sincitiales: Todos los casos de ambos grupos mostraron positividad en los nodos sincitiales. El grupo con preeclampsia mostró mayores grados de intensidad que el grupo control (Figuras 52 y 53). Tuvo tinción débil el 31,6%, moderada intensidad en el 18,4% e intensidad marcada en el 13,2%

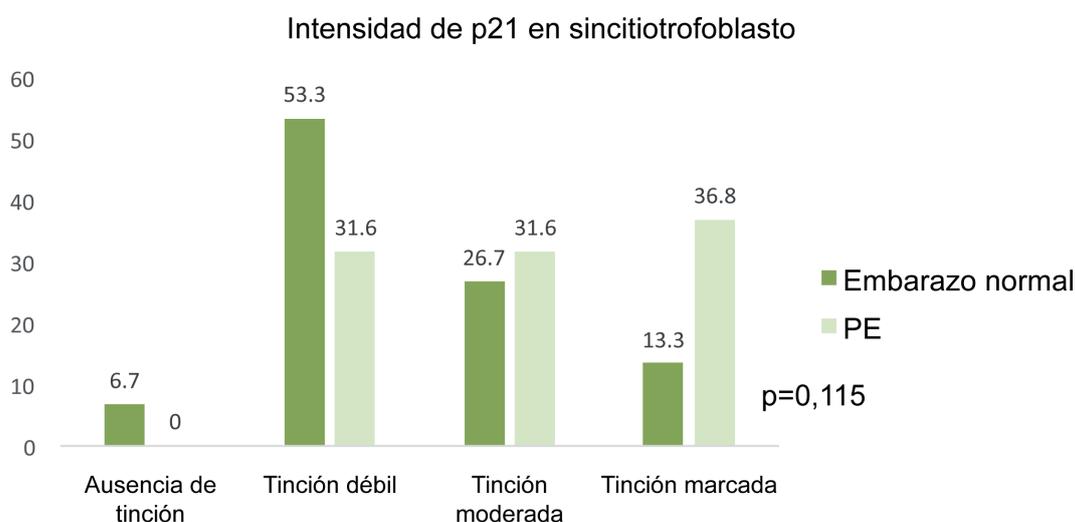


Gráfico 27. Intensidad de p21 en sincitiotrofoblasto (%).

(p= 0,338). El grupo control mostró una tinción débil en el 33,3% y tinción marcada en el 20%. No se identificaron casos con tinción de intensidad moderada. El grupo con preeclampsia no presentó tinción en el 36,8% y el control en el 46,7%. Predominó la intensidad débil en el grupo control y preeclampsia. En cuanto a la expresión de p21 en el grupo control fue principalmente inferior al 10% en el 53,3%. En el grupo con preeclampsia se encontraron más casos con expresión de inferior al 10% y mayor número de casos con expresión entre el 10 y 50% en el 57,9% y 5,3%, respectivamente (p= 0,580).

De los datos de inmunohistoquímica expuestos se puede concluir que en este estudio la tinción de inmunohistoquímica para la p21 en el citotrofoblasto fue mayor en intensidad y principalmente en el grado de expresión en el grupo de preeclampsia en comparación con el grupo control. La intensidad fue marcada en el 20% y 55,3% en grupo control y preeclampsia, respectivamente. En el citotrofoblasto del grupo de preeclampsia se observó una mayor expresión con positividad < 10%

en el 13,2%, entre el 10 al 50% en el 44,7% y >50% en el 42,1%. El grupo control mostró expresión <10% en el 73,3% y expresión entre el 10 y el 50% en el 23,7%. Ningún caso control mostró expresión de más del 50%. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($p=0,000$).

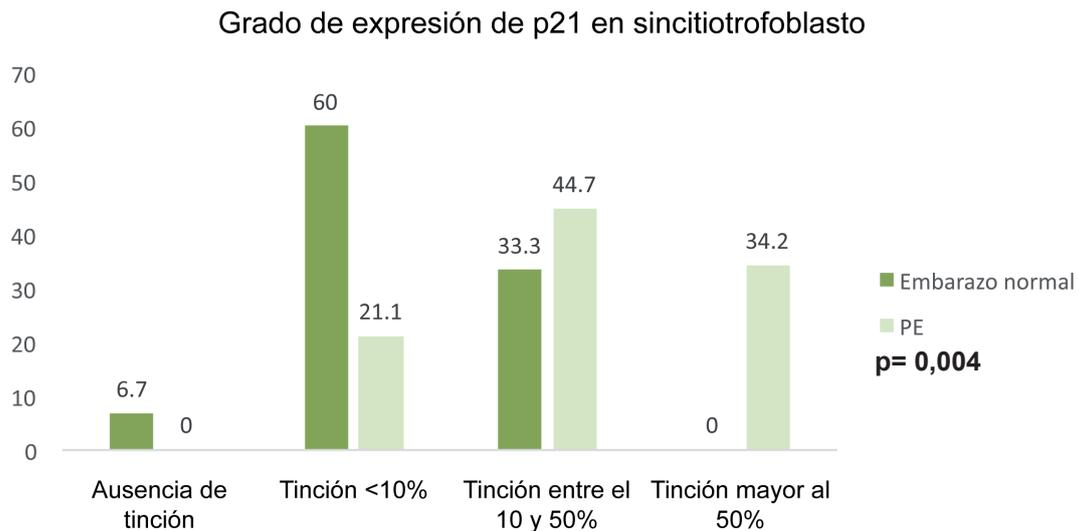


Gráfico 28. Grado de expresión de p21 en sincitiotrofoblasto (%).

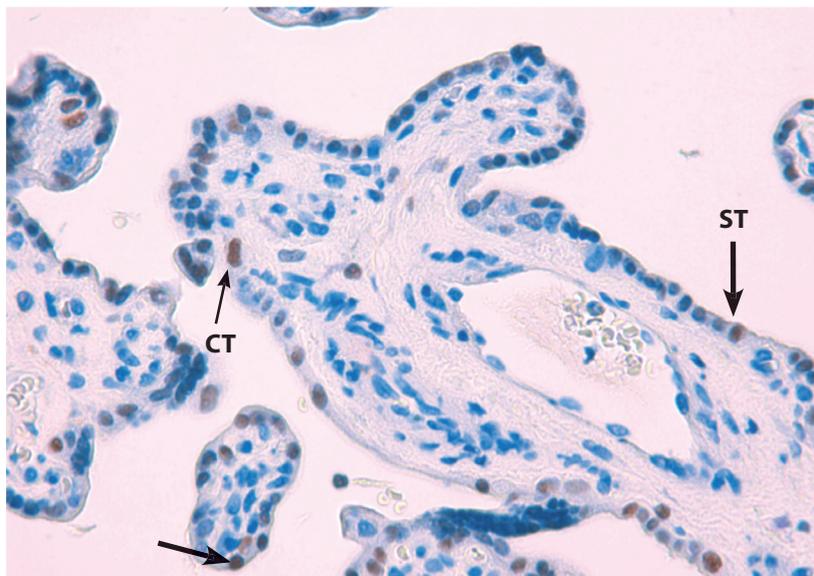


Figura 51. Tinción de intensidad moderada en los núcleos de las células del sincitiotrofoblasto (ST) en la superficie de la vellosidad (flecha gruesa) y en los núcleos de algunas células del citotrofoblasto (CT) en la capa interna (flecha fina). Preparación teñida con inmunohistoquímica con p21 en placenta del grupo pretérmino con preeclampsia a 20X.

4.7. Grado de expresión e intensidad inmunohistoquímica de p21 y p53 en placentas con preeclampsia

4.7.1. Grado de expresión e intensidad inmunohistoquímica de p53 en placentas con preeclampsia

En el grupo pretérmino la p53 mostró una intensidad de tinción del citotrofoblasto en el 22,7%, 31,8% y 45,5% de tipo débil, moderada y marcada, respectivamente ($p= 0,225$). En el grupo de preeclampsia a término la intensidad en el citotrofoblasto fue del 37,5%, 43,8% y 18,8% de tipo débil, moderada y marcada. El grupo PPT mostró mayor intensidad de tinción nuclear para p53 (Gráfico 29).

El porcentaje de expresión de este marcador en el citotrofoblasto en el grupo PPT fue del 36,4%, 50% y 13,6% de expresión <10%, entre el 10 y 50% y > 50%, respectivamente, y el grupo PT una expresión del 25%, 50% y 25% ($p= 0,598$). No existen diferencias significativas en el grado de expresión y en la intensidad de p53 en el citotrofoblasto entre PPT y PT en casos de preeclampsia (Gráfico 30).

El sincitiotrofoblasto mostró una intensidad débil en el 13,6% en comparación con la ausencia de tinción de p53 en el grupo PT ($p= 0,183$), con resultados similares para la expresión de p53

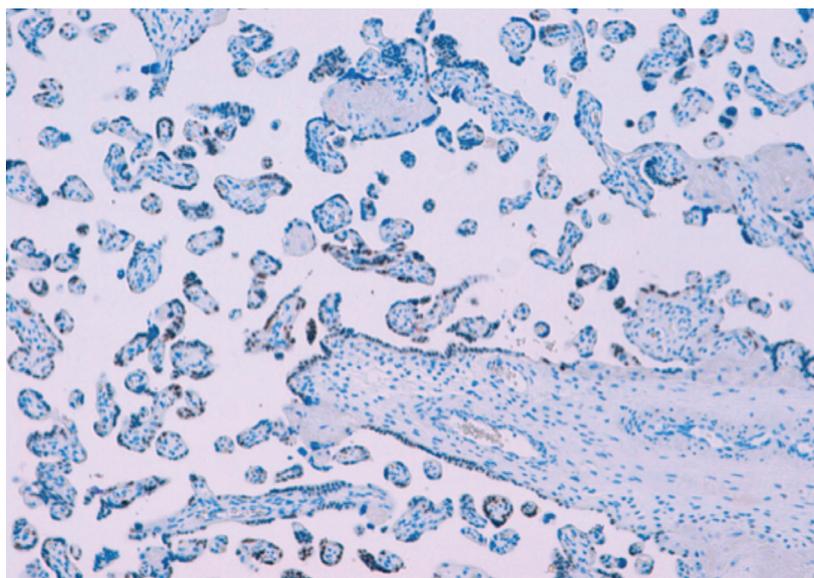


Figura 52. Tinción de p21 de intensidad marcada y mayor al 50% de la sección en los nodos sincitiales (agrupaciones de núcleos de sincitiotrofoblasto localizados en la superficie de las vellosidades). Preparación teñida con inmunohistoquímica en placenta de preeclampsia pretérmino a 4X.

en sincitiotrofoblasto. El grupo PPT mostró un ligero predominio de tinción de p53 tanto en la intensidad como en el porcentaje de expresión, ya que en el grupo PT no se encontró tinción en ningún caso en este tipo celular.

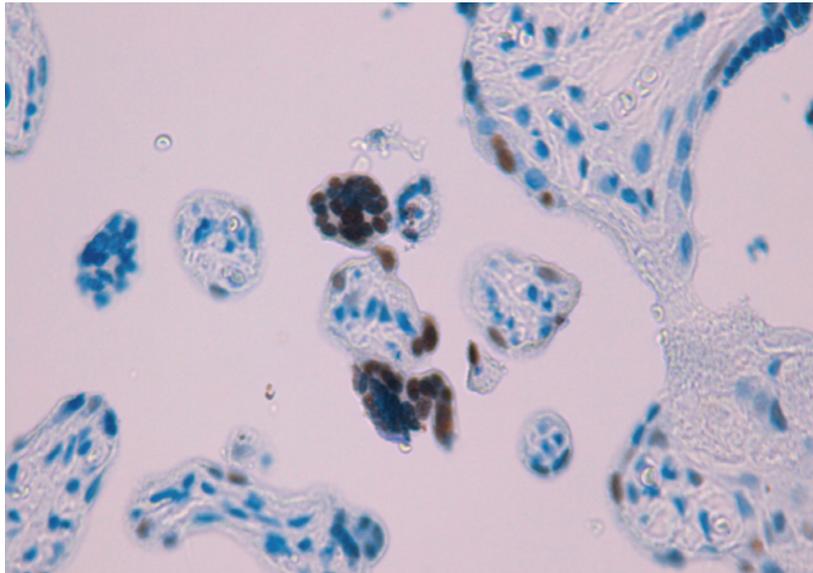


Figura 53. Tinción de p21 de intensidad marcada en los núcleos de los nodos sincitiales a mayor aumento que en la imagen anteriormente mostrada en placenta con preeclampsia pretérmino a 40X.

4.7.2. Grado de expresión e intensidad inmunohistoquímica de p21 en placentas con preeclampsia

El grupo PPT mostró una intensidad de tinción de p21 en el CT de 4,5%, 18,2% y 77,3% de tipo débil, moderada y marcada, respectivamente. En el grupo PT la intensidad de p21 en el citotrofoblasto fue de 12,5%, 62,5% y 25% ($p=0,006$). El porcentaje de expresión de este marcador en el citotrofoblasto en el grupo PPT tuvo un 13,6%, 59,1% y 27,3% de tinción <10%, entre el 10 y 50% y >50%, respectivamente ($p=0,076$). En el grupo PT se encontró un 12,5%, 25% y 62,5% (Gráfico 31 y 32).

El sincitiotrofoblasto mostró una intensidad débil, moderada y marcada para p21 en el grupo PPT de 22,7%, 27,3% y 50% respectivamente, en comparación con el grupo PT que presentó una tinción del 43,8%, 37,5% y 18,8%, respectivamente ($p=0,131$) (Gráfico 33).

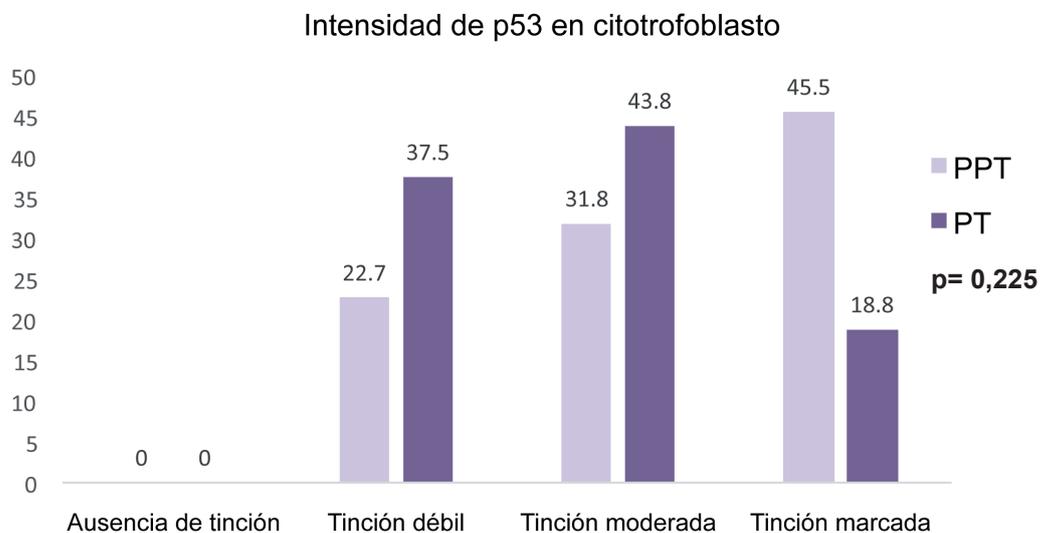


Gráfico 29. Intensidad de p53 en citotrofoblasto en preeclampsia.

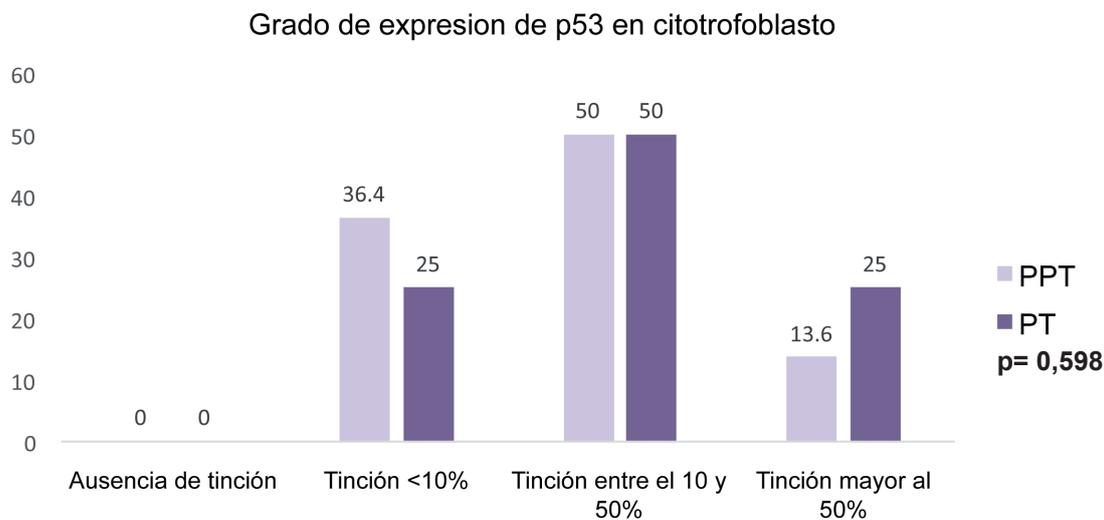


Gráfico 30. Grado de expresión de p53 en citotrofoblasto en preeclampsia (%).

En cuanto al porcentaje de expresión se encontró un ligero predominio del grupo PT sobre el PPT. El grupo PT tuvo una expresión de 25%, 37,5% y 37,5%, inferior al 10%, entre el 10 - 50% y >50%, respectivamente y en las placentas PPT fue de 18,2%, 50% y 31,8% ($p= 0,735$). El grupo PPT mostró mayor número de casos con expresión entre el 10 y 50% ($n= 11$) y el grupo PT mayor número de casos con expresión >50% ($n= 6$) (Gráfico 34).

A continuación analizamos la asociación entre los hallazgos histopatológicos y las variables clínicas, incluyendo solamente los casos de placentas con preeclampsia (n= 38).

4.8. Crecimiento intrauterino restringido

Los casos en los que hubo crecimiento intrauterino restringido (CIR) fue en el 35,8% del total de las placentas estudiadas, todos los casos se presentaron en el grupo con preeclampsia. Los embarazos normales no mostraron en este estudio ninguna asociación con CIR. En los casos de preeclampsia se demostró la presencia de CIR en el 50%. Se encontró un claro predominio de CIR en los embarazos PPT (72,7%, n= 16), con menor afectación en placentas PT (18,8%, n= 3) (p= 0,001). Del total de casos de CIR los casos PPT constituyeron el 84,2% y los PT el 15,8%(Gráfico 35).

4.8.1. Relación del crecimiento intrauterino restringido y la principales variables histopatológicas

Crecimiento intrauterino restringido y arteriopatía decidual: Existe un mayor predominio de crecimiento intrauterino restringido (CIR) en casos con arteriopatía decidual ya que el 73,7% (n= 14) de todos los casos de arteriopatía decidual mostraron CIR, pero este dato no resultó ser estadísticamente significativo (p= 0,346) (Gráfico 36).

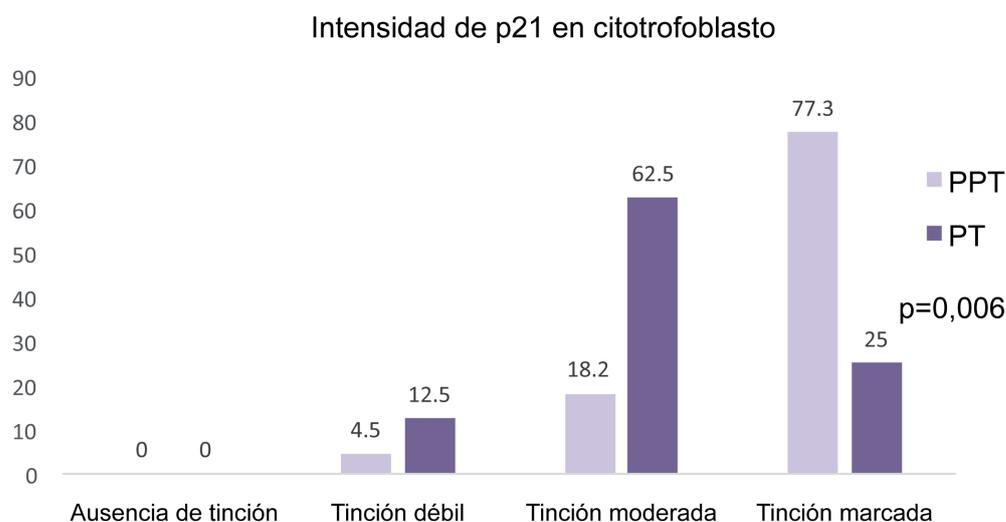


Gráfico 31. Intensidad de p21 en citotrofoblasto en preeclampsia (%).

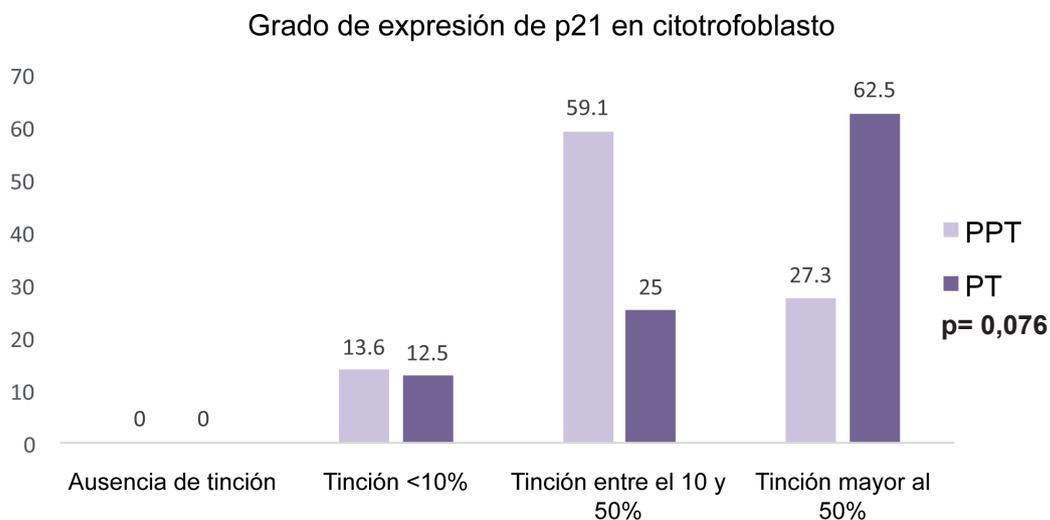


Gráfico 32. Grado de expresión de p21 en citotrofoblasto en preeclampsia (%).

Crecimiento intrauterino restringido y grado de arteriopatía decidual: El 36,8% y 36,8% de los casos de crecimiento intrauterino restringido mostraron arteriopatía decidual leve y moderada, respectivamente y ningún caso daño severo ($p= 0,803$), no existiendo una asociación estadísticamente significativa entre ambas variables.

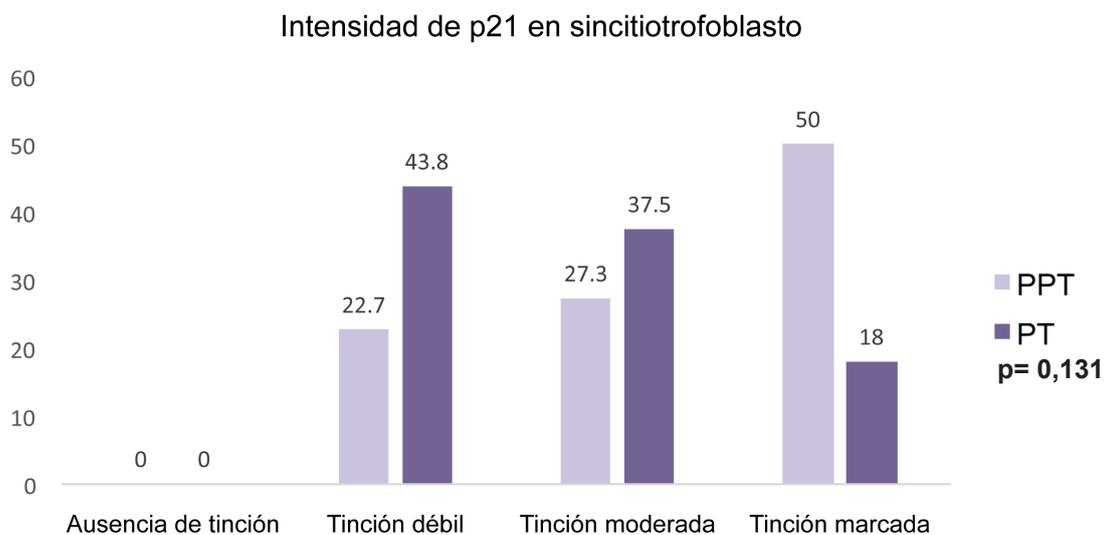


Gráfico 33. Intensidad de p21 en sincitiotrofoblasto en preeclampsia (%).

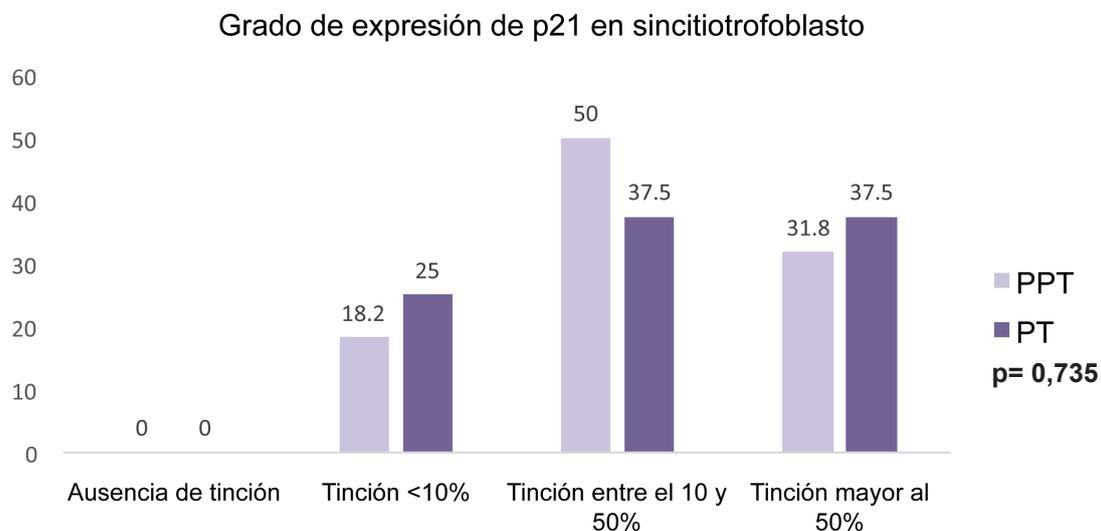


Gráfico 34. Grado de expresión de p21 en sincitiotrofoblasto en preeclampsia (%).

Crecimiento intrauterino restringido y aterosclerosis aguda: Un 57,9% de casos de CIR presentaron aterosclerosis aguda (n= 11). El 42,1% (n= 8) del CIR no presentó aterosclerosis aguda. La mayor parte de casos de CIR con aterosclerosis aguda mostraron afectación leve en el 47,4% (n= 9), un 10,5% fue moderada (n= 2). El 100% de los casos de aterosclerosis aguda se asociaron a CIR y el 56,3% de los casos de aterosclerosis leve (p= 0,218) (Gráfico 37).

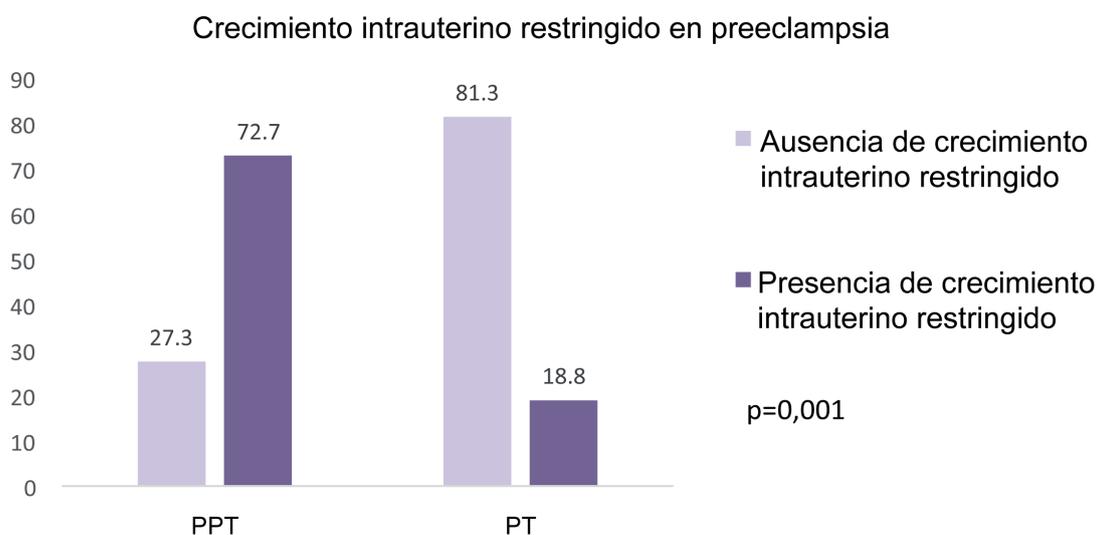


Gráfico 35. Crecimiento intrauterino restringido en preeclampsia (%).

Crecimiento intrauterino restringido y necrosis fibrinoide: Los casos con crecimiento intrauterino restringido mostraron ausencia de necrosis fibrinoide en el 52,6% (n= 10) y presencia en el 47,4% (n= 9). El 100% de los casos de necrosis fibrinoide asociaron CIR (n= 4) ($p= 0,097$).

Crecimiento intrauterino restringido e infartos: La mayor parte de los casos de crecimiento intrauterino restringido se asociaron con mayor número de infartos (63,2%, n= 12) del crecimiento intrauterino restringido, sin encontrar este cambio en el resto de casos (36,8%, n= 7, $p= 0,257$). En relación al número de infartos en el CIR, se encontró que del grupo con infartos el mayor número de casos fue de tipo leve (de 2 a 3 focos de infarto) con el 26,3% (n= 5). Se encontró que el 15,8% del CIR tuvo un foco único de infarto (n= 3), 15,8% tuvo un grado moderado (n= 3) y únicamente un caso de CIR tuvo grado severo de infartos (más de 5 focos) ($p= 0,506$).

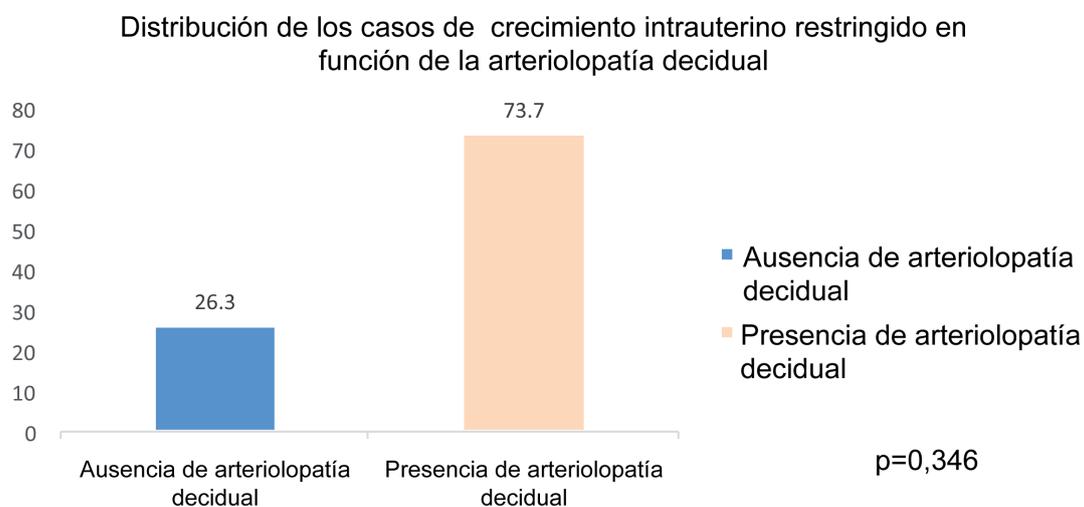


Gráfico 36. Distribución de los casos de crecimiento intrauterino restringido en función de la arteriopatía decidual.

4.9. Tensión arterial y variables histopatológicas

Tensión arterial media y arteriopatía decidual: La media de tensión arterial sistólica y tensión arterial diastólica en los casos con arteriopatía decidual fue 170,20 + mmHg y 101,70 + mmHg, respectivamente (SD15,151 y 10,44). Entre los casos de arteriopatía decidual leve y moderada y

severa la media fue notablemente diferente con mayores cifras para el grado moderado de arteriopatía decidual, con tensión arterial sistólica media para el grado leve y moderado de arteriopatía decidual fue 167,13 + mmHg y 174,92 + mmHg respectivamente (SD de 14,7 y 15) ($p= 0,255$). Para la arteriopatía decidual de grado moderado fue una media de tensión arterial diastólica de 99,63+ mmHg (SD 8,3) y 104,23 + mmHg (SD12,8) (Gráfico 38).

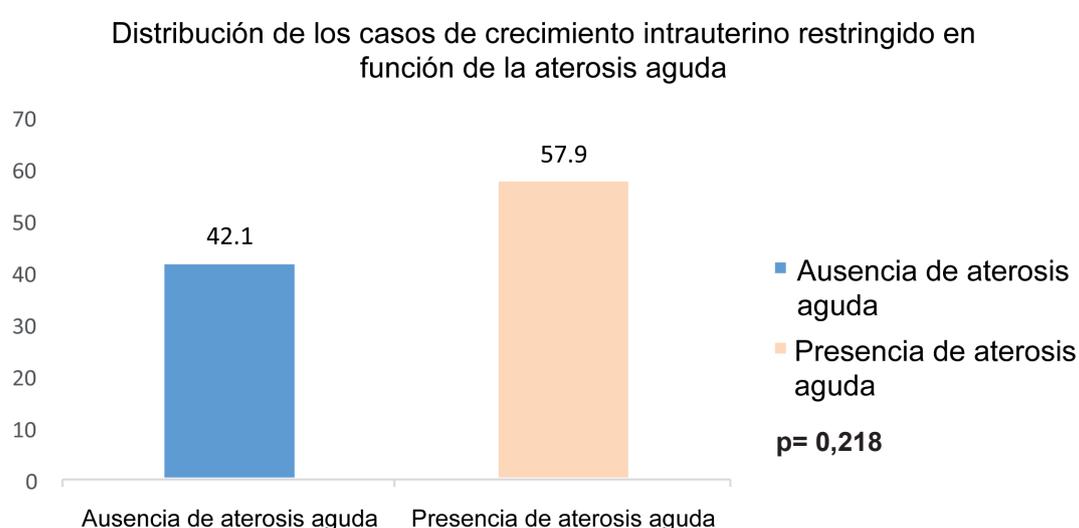


Gráfico 37. Distribución de los casos de crecimiento intrauterino retardado en función de la aterosclerosis aguda (%).

Tensión arterial media y aterosclerosis aguda: La tensión arterial sistólica y tensión arterial diastólica media en los casos con aterosclerosis aguda de grado moderado y severo fue de 174,00 + mmHg y 120 + mm Hg, respectivamente (SD 8,4 y 22,67) (Gráfico 39).

Tensión arterial y Necrosis fibrinoide: Al igual que otros hallazgos histopatológicos clásicos de preeclampsia como aterosclerosis y arteriopatía, la necrosis fibrinoide mostró que en términos generales no se asocia con las cifras de tensión arterial más alta en la población de placentas con preeclampsia, pero sí con los casos en los que este cambio histopatológico es más grave y muestra mayor extensión. La mayor parte de los casos con necrosis fibrinoide se asociaron a cifras altas, siendo la media de tensión arterial sistólica pico y tensión arterial diastólica pico 165,90+ mmHg y 100,50+ mmHg respectivamente). Las medias de tensión arterial sistólica y tensión arterial diastó-

lica pico más altas fueron 188,25+ mmHg y 113,50+mmHg respectivamente) se relacionaron con mayor número de vasos con necrosis fibrinoide (tres vasos sanguíneos afectados o más) es decir un grado moderado (Gráfico 40).

Infartos y tensión arterial: La media de tensión arterial sistólica pico en los casos sin evidencia de infartos fue mayor que la media de tensión arterial sistólica pico en los casos con presencia de infartos (173,41 y 169,62 mmHg respectivamente). La media de tensión arterial diastólica pico también fue mayor en el grupo sin infartos (102,35 versus 100,29 mmHg, respectivamente). En relación al grado de afectación de infartos en los casos sin infartos la media de tensión arterial sistólica pico y tensión arterial diastólica pico fue de 174,33 mmHg y 101,94 mmHg (SD 13,7 y 11,090) y en los casos con grado severo de infartos fue de 175,00 mmHg y 102,50 mmHg respectivamente (SD de 7,07 y 10,22 $p=0,369$).

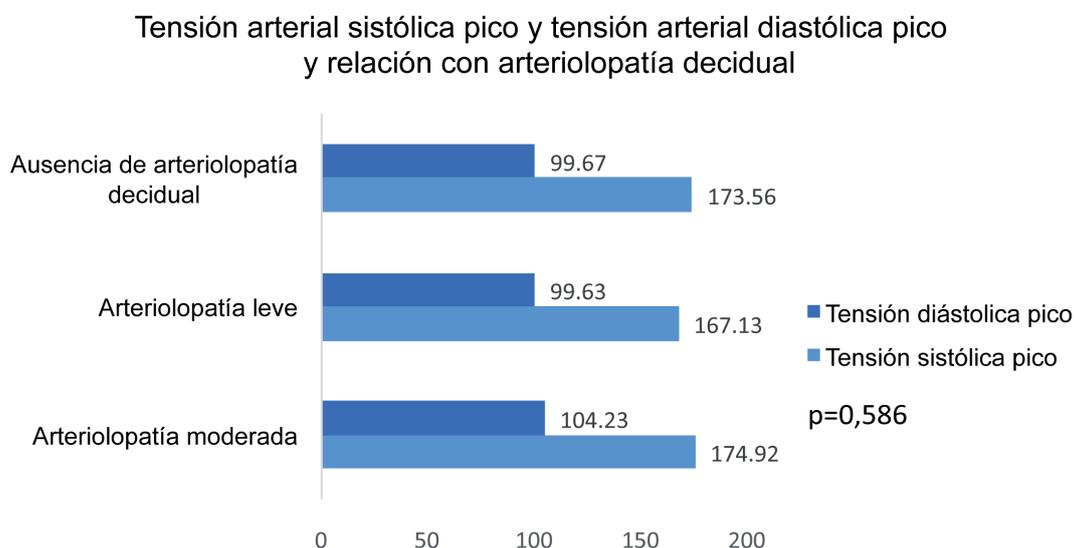


Gráfico 38. Grado de arteriopatía decidual (AP) y medias de tensión arterial sistólica (TAS) y diastólica (TAD) (%).

4.10. Análisis de las altas resistencias uterinas

El grupo con gestación normal no mostró altas resistencias uterinas. Sin embargo el grupo con preeclampsia mostró que el 89,4% de los casos ($n=34$) presentaron altas resistencias uterinas. Las

altas resistencias uterinas mostraron relación con los criterios de gravedad establecidos la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO) ya que el 77,8% de todos los casos de preeclampsia con criterios de gravedad se asociaron a este cambio ($p=0,034$).

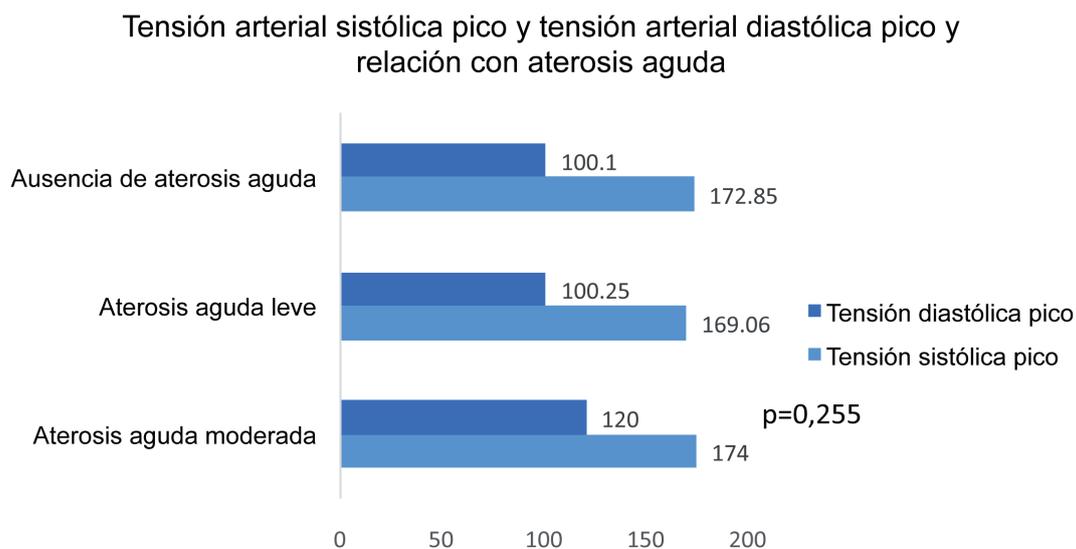


Gráfico 39. Relación de aterosclerosis con cifras de tensión arterial sistólica pico (TAS pico) y tensión arterial diastólica pico (TAD pico).****Prueba de Kruskal-Wallis.

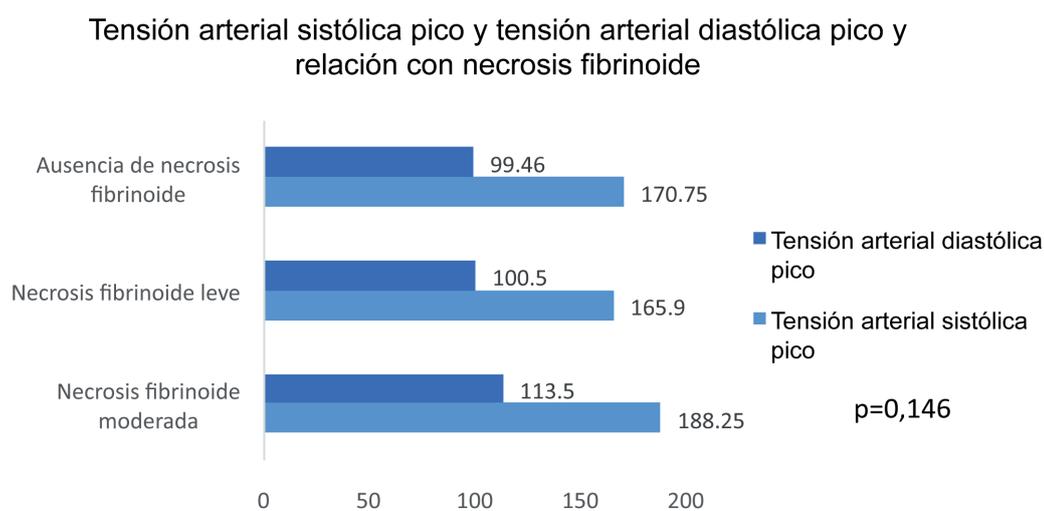


Gráfico 40. Tensión arterial sistólica pico y diastólica pico y su relación con la necrosis fibrinoide (%).***Prueba de Kruskal-Wallis.

Altas resistencias uterinas y preeclampsia precoz: La mayoría de los casos con altas resistencias uterinas no se asociaron con preeclampsia precoz. Solamente el 32,4% de los casos con altas resistencias uterinas tuvieron preeclampsia precoz (n= 11) (p= 0,446).

4.10.1. Altas resistencias uterinas y cambios histopatológicos

Del total de casos con preeclampsia (n= 38), 34 casos mostraron AR. El 55,9% (n= 19) de los casos de preeclampsia con altas resistencias uterinas (AR) tuvieron asociada la presencia de arteriopatía decidual (p= 0,250). El 44,1% (n= 15) de casos con AR no mostraron presencia de daño en la decidua basal. Sin embargo, del total de casos con daño vascular en la decidua basal se identificó que 70,4% tuvieron AR. Por otro lado la aterosclerosis aguda se encontró en el 38,3% (n= 13) de los casos de AR y estuvo ausente en el 61,8% (n= 21) (p= 0,466). La necrosis fibrinoide se relacionó con el 20,5% (n= 8) de todos los casos con AR y estuvo ausente en el 76,5% (n= 26) (p= 0,554). La placentación deficiente una de las características más importantes relacionadas con la fisiopatogenia de la preeclampsia estuvo presente en el 55,9% de los casos de AR (n= 19) y no se encontró en el 44,1% (n= 15) (p= 0,78).

4.10.2. Altas resistencias uterinas e inmunohistoquímica

Observamos que en los 34 casos con AR del total de 38 casos de preeclampsia, únicamente se identificaron algunas diferencias en la intensidad y grado de expresión de la p21 en el citotrofo-

Resistencias uterinas e intensidad de p53 y p21						
		0 (Ausencia) % (n)	1 (Débil) % (n)	2 (Moderada) % (n)	3 (Marcada) % (n)	p
p53 CT	AR	0 (0,0)	35,3 (12)	41,2 (14)	23,5 (8)	0,305
	BR	0 (0,0)	52,6 (10)	21,1 (4)	26,3 (5)	
p53 ST	AR	97,1 (33)	2,9 (1)	0 (0,0)	0 (0,0)	0,006
	BR	68,4 (13)	31,6 (6)	0 (0,0)	0 (0,0)	
p21 CT	AR	0 (0,0)	11,8 (4)	41,2 (14)	47,1 (16)	0,664
	BR	0 (0,0)	21,1 (4)	36,8 (7)	42,1 (8)	
p21 ST	AR	0 (0,0)	38,2 (13)	32,4 (11)	29,4 (10)	0,580
	BR	5,3 (1)	36,8 (7)	26,3 (5)	31,6 (6)	

Tabla 49. Distribución de los casos según resistencias uterinas y la intensidad inmunohistoquímica de p53 y p21. AR: altas resistencias uterinas. BR: bajas resistencias uterinas.**Chi-cuadrado de Pearson.

blasto y sincitiotrofoblasto, en comparación con los casos con bajas resistencias (Tabla 48 y 49).

El resto de los casos de AR no mostraron diferencias apreciables en la intensidad y expresión de la p53, ya que los casos con bajas resistencias presentaron una intensidad y grado de expresión inmunohistoquímica muy similar a la de los casos con AR, sin diferencias estadísticamente significativas (Tabla 48 y 49).

Resistencias uterinas y expresión de p53 y p21						
		Ausencia de tinción % (n)	<10% (n)	Del 10 al 50% (n)	>50% (n)	p
p53 CT	AR	0	44,1 (15)	35,3 (12)	20,6 (7)	0,104
	BR	0	57,9 (11)	42,1 (8)	0	
p53 ST	AR	97,1 (33)	2,9 (1)	0	0	0,006
	BR	68,4 (13)	31,6 (6)	0	0	
p21 CT	AR	0	17,6 (6)	44,1 (15)	38,2 (13)	0,024
	BR	0	52,6 (10)	31,6 (6)	15,8 (3)	
p21 ST	AR	0	23,5 (8)	47,1 (16)	29,4 (10)	0,134
	BR	5,3 (1)	47,4 (9)	31,6 (6)	15,8 (3)	

Tabla 50. Distribución de los casos según resistencias uterinas y el grado de expresión inmunohistoquímica de p53 y p21. AR: altas resistencias uterinas. BR: bajas resistencias uterinas.**Chi-cuadrado de Pearson.

5. Discusión

CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA Y EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA
DE LOS MARCADORES p53 Y p21 EN EL TROFOBLASTO PLACENTARIO
EN PREECLAMPSIA

La Anatomía Patológica como especialidad médica ha avanzado enormemente en las últimas décadas con la aparición de nuevas técnicas complementarias que permiten un estudio más completo y minucioso de los cambios tisulares producidos por la enfermedad. Hoy en día la inmunohistoquímica constituye una herramienta indispensable para el patólogo que permite visualizar la expresión de determinadas proteínas en los tejidos y así evaluar características antes impensables con el microscopio óptico que limitaban la comprensión completa de la enfermedad.

El estudio de la patología placentaria, es quizás una de las áreas menos exploradas e infravaloradas dentro del estudio de la Anatomía Patológica y quizá sea necesaria la formación de patólogos especializados en patología perinatal, para que esta situación cambie (Roberts, 2008).

La falta de una guía o protocolo internacional para el estudio histopatológico de la placenta, con empleo de una nomenclatura que permita homogeneidad en los informes pone en evidencia la dificultades a las que se enfrenta el patólogo en este tema. Aunque no existe indicación clínica para el estudio anatomopatológico de la placenta en una gestación normal, en situación de enfermedad materna o fetal, el análisis microscópico de esta compleja estructura puede aportar datos valiosos. Desgraciadamente todavía existen muchos y diversos aspectos deficitarios en relación a la valoración histopatológica de la placenta, uno de los más importantes, es el desconocimiento de las indicaciones precisas para su estudio. La preeclampsia constituye una indicación bien establecida del estudio histopatológico de la placenta, identificándose cambios histopatológicos bastante característicos, que lamentablemente no están descritos tan ampliamente como cabría esperar.

Existe en la actualidad un gran interés enfocado al estudio de diversos fenómenos subyacentes a esta enfermedad, que se han centrado en el estudio inmunohistoquímico, así como en la expresión de proteínas en el tejido placentario (Zhang *et al.*, 2006). Uno de estos importantes eventos que ha suscitado interés es la muerte celular en la placenta a través de la apoptosis. Por todas las razones expuestas anteriormente, y aunque no existe una correlación estrecha entre la gravedad clínica de la preeclampsia y los cambios histopatológicos, existe una necesidad clara de continuar estudiando nuevas series de casos que permitan definir mejor y más a fondo los hallazgos histopatológicos de las placentas de mujeres con esta enfermedad.

La placenta y concretamente las vellosidades placentarias muestran un mayor desarrollo y complejidad conforme la gestación avanza. La superficie placentaria se incrementa considerablemente de forma fisiológica para optimizar el intercambio entre la sangre materna y la fetal. Esto es posible mediante la ramificación más compleja de las vellosidades y su consecuencia final es la existencia de estructuras pequeñas y altamente eficaces como son las vellosidades terminales. La sangre materna atraviesa una delgada capa de sincitiotrofoblasto y ocasionales células de citotrofoblasto (capa discontinua) y sus respectivas membranas basales, además de la fina pared de los vasos sanguíneos capilares con escaso o nulo estroma vellositario, determinando un flujo sanguíneo óptimo para el feto. Para el mantenimiento de las vellosidades a lo largo de la gestación, es indispensable un equilibrio entre la proliferación celular o aparición de nuevas células y la muerte de éstas. En la placenta el mecanismo principal de muerte celular es la apoptosis.

En condiciones normales, la apoptosis se incrementa a medida que avanza el embarazo y se considera una característica normal del desarrollo placentario (Smith *et al.*, 1997; Leung, 2001). Aunque a nivel óptico, en ocasiones, es difícil de distinguir entre los dos revestimientos epiteliales, este fenómeno ha sido identificado predominantemente en el citotrofoblasto y también en el sincitiotrofoblasto (Mathew, 2014). Se ha mencionado que la apoptosis del sincitiotrofoblasto se incrementa del 2 al 3% de un embarazo normal al 5 a 6% en embarazos con preeclampsia (Di Federico *et al.*, 1999; Leung *et al.*, 2001; Ishihara *et al.*, 2002; Levy *et al.*, 2002). De Myatt. (2002) menciona que existe una mínima apoptosis en los embarazos normales en contraste con un 15 a 50% de células apoptóticas en la placenta de mujeres con preeclampsia (Myatt, 2002). Diversas patología maternas se asocian a mayor apoptosis placentaria, como abortos del primer trimestre, preeclampsia, crecimiento intrauterino restringido, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, infección por malaria y enfermedad trofoblástica gestacional (Sharp, 2010).

Por lo anterior se ha propuesto que la apoptosis placentaria, se incrementa en condiciones de enfermedad materna. Aunque el sincitiotrofoblasto se ha considerado un revestimiento epitelial predominantemente inactivo, recientemente este concepto ha cambiado, entre otras cosas por el hallazgo de su capacidad para secretar proteínas (Ellery *et al.*, 2009). Para lograr esto, el sincitiotrofoblas-

to realiza un mecanismo de renovación, con incorporación de material a las células y degradación de núcleos y componentes celulares (Sharp *et al.*, 2010). Se considera que el citotrofoblasto proporciona este material para la creación de nuevo sincitiotrofoblasto al fusionarse e integrarse en la capa de sincitiotrofoblasto. En este complicado proceso intervienen proteínas reguladoras.

Se ha demostrado que algunas de estas proteínas son el factor de transcripción específico del corion (GCM-1) y la sincitina-1 y la sincitina-2. Se considera que la regulación entre el balance de proliferación y muerte celular en esta capa epitelial muestra alteraciones en la preeclampsia y crecimiento intrauterino restringido (Crocker *et al.*, 2004). Distintas investigaciones han evidenciado una disminución en la expresión inmunohistoquímica de marcadores de proteínas antiapoptóticas como bcl-2, mdm2, Mcl-1 e inhibidores de la apoptosis (IAPs) que antagonizan los efectos de proteínas proapoptóticas como p53, p21, Bax/ Bak, Mtd y smac. La pro-caspasa 3 y la caspasa 8 mostraron incremento a nivel de proteína, pero sin traducción a nivel inmunohistoquímico. Se menciona el aumento de la expresión de marcadores como p53, p21, NF-Kappa B, Bax, Cox-2 en la preeclampsia (Sharp *et al.*, 2014).

5.1. Diferencias histopatológicas entre placentas con preeclampsia y placentas del grupo control

En el presente estudio analizamos cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina y teñidos mediante inmunohistoquímica (p53 y p21) un total de 53 placentas, 15 producto de embarazos normales, 22 placentas con preeclampsia pretérmino y 16 con preeclampsia a término.

La frecuencia de los hallazgos histopatológicos en la preeclampsia muestra una gran variación según las diferentes fuentes bibliográficas consultadas, y aunque las series de casos con estudio histopatológico no son infrecuentes, llama la atención el carácter heterogéneo de éstas y la enorme diversidad en la nomenclatura que los autores emplean para el estudio de los cambios morfológicos, lo que refleja la falta de unificación en la terminología aplicada al estudio placentario que persiste hasta hoy en día y que claramente dificulta la comparación entre las series publicadas.

La amplia variedad de cambios histopatológicos que ocurren en la preeclampsia no son específicos de esta enfermedad, ya que incluso la arteriopatía decidual, considerada por mucho tiempo

patognomónica de las placentas con preeclampsia, se ha descrito en otras patologías maternas sistémicas, e incluso algunos autores la describen en placentas sin patología materna (Khong, 1987; Kim *et al.*, 2015). Por otro lado, como ya se ha mencionado anteriormente no existe una clara correlación entre la gravedad clínica o severidad de la preeclampsia y los cambios histopatológicos, sugiriendo que la preeclampsia es más una enfermedad funcional de la vasculatura materna que un proceso que determina cambios tisulares observables muy marcados

En el estudio histopatológico de placentas de mujeres con preeclampsia de Vinnars *et al* (2008) observaron que los casos con preeclampsia severa sin síndrome de hemólisis, enzimas hepáticas elevadas y trombopenia y que se asocia a preeclampsia grave (HELLP) mostraron mayor número de infartos, trombos intervillosos y desprendimiento de placenta en comparación con los casos de mujeres con preeclampsia y síndrome de HELLP (178 placentas en total, 96 con preeclampsia sin HELLP y 82 placentas de preeclampsia con HELLP), encontrando en el grupo con preeclampsia 41.7%, 45.3%, 29.2% de infartos, trombos intervillosos y desprendimiento de placenta y 23.5%, 11.9%, 9.9% respectivamente en el grupo con HELLP. Este grupo de trabajo sugiere que probablemente la razón de estas diferencias en el espectro de lesiones placentarias entre preeclampsia y síndrome de HELLP se deba a que esta última condición no da lugar a que se desarrollen lesiones histopatológicas debido a su curso clínico rápido.

Los hallazgos de este grupo coinciden con los que encontraron Smulian *et al* (2004) quienes encontraron un ligero aumento en el desprendimiento de placenta en el grupo de preeclampsia severa (56 placentas con preeclampsia severa y 31 con preeclampsia y síndrome de HELLP).

En este sentido, se han realizado hallazgos similares, como el de Zhang *et al* (2006) quienes en 350 casos de placentas con preeclampsia sin síndrome de HELLP, determinaron que únicamente el 24% de los casos de preeclampsia mostraron cambios histopatológicos (1 de cada 5 placentas estudiadas en su serie), sugiriendo que en la preeclampsia se produce un daño en el sistema de circulación materna que no puede ser detectado únicamente mediante el examen histopatológico de la placenta. Este mismo autor encontró mayor arteriopatía decidual en los casos de placentas pretérmino en comparación con los de preeclampsia a término (350 casos en total, 241 de preeclampsia

pretérmino y 109 de preeclampsia a término que mostraron 27% (64 casos) en el grupo pretérmino y 10% (11 casos) de afectación por arteriopatía decidual en el grupo a término. Siguiendo esta tendencia, Moldenhauer *et al* (2003) encontraron que los cambios histopatológicos son inversamente proporcionales a la edad gestacional, es decir son mayores en el grupo pretérmino.

En nuestro trabajo no se encontró correlación entre la gravedad de la preeclampsia y los cambios histopatológicos. La mayor parte de casos con arteriopatía decidual no asociaron las mayores cifras de tensión arterial sistólica, ni diastólica (la media de tensión arterial diastólica pico y diastólica pico fue de 170,20 mmHg y 101,70 mmHg (Desv. típ:15,151 y 10,449) en los casos con arteriopatía decidual, y de 175,50 mmHg y 99,38 mmHg en los casos sin arteriopatía, respectivamente con Desv. Típ: 12,873 y 9,753). Se ha descrito en algunos estudios previos que mujeres con cifras de tensión altas no muestran grandes cambios tisulares placentarios (Salafia *et al.*, 1998; Zhang *et al.*, 2006).

Encontramos que el grupo de placentas con preeclampsia en comparación con el grupo con-

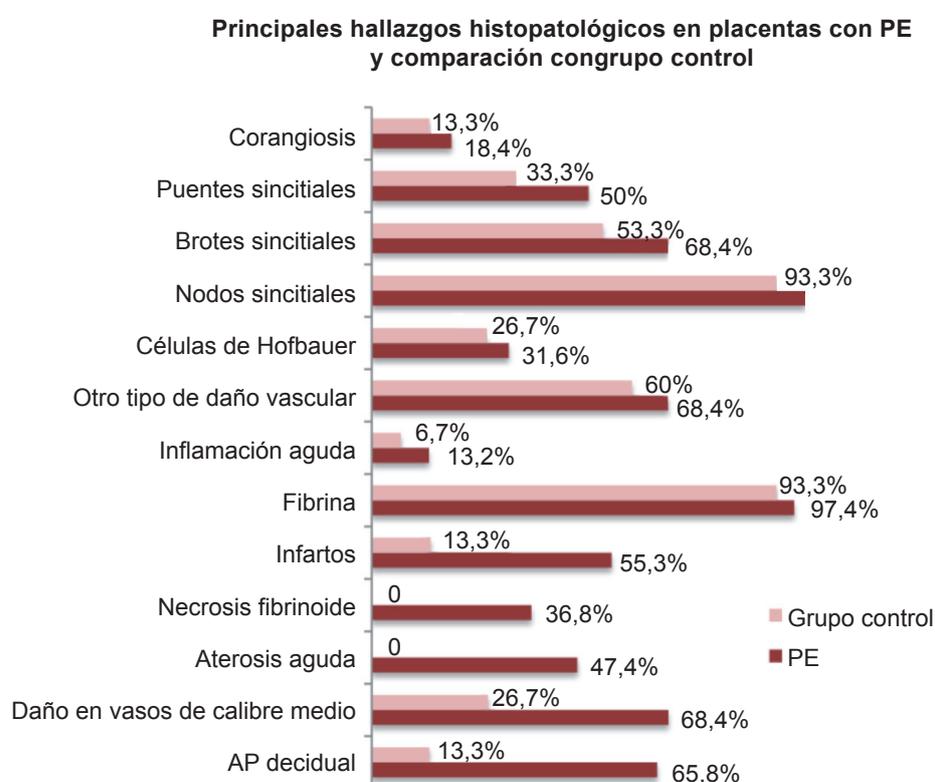


Gráfico 41. Principales hallazgos histopatológicos en placentas con preeclampsia (PE) y placentas del grupo control (%).

trol, mostró mayor proporción de los siguientes cambios: arteriopatía decidual, daño en vasos de calibre medio, presencia de aterosclerosis aguda y necrosis fibrinoide (hallazgos ausentes en los casos del grupo control), otros tipos de daño vascular, número de infartos, fibrina, nodos sincitiales, presencia y grado de corangiomas, células de Hofbauer, inflamación aguda, y de forma muy llamativa mayor número de brotes y puentes sincitiales (Gráfico 41).

De los cambios histopatológicos mencionados anteriormente, los que mostraron diferencias estadísticamente significativas fueron: la arteriopatía decidual, la aterosclerosis aguda, la necrosis fibrinoide, los infartos, otros tipos de daño vascular y la placentación deficiente (Tabla 50).

Variable histopatológica	Embarazo normal	Preeclampsia	p
Arteriopatía decidual n (%)	2 (13,3)	25 (65,8)	0,009
Aterosclerosis aguda n (%)	0 (0)	18 (47,4)	0,005
Necrosis fibrinoide n (%)	0 (0)	14 (36,8)	0,023
Otro tipo de daño vascular n (%)	6 (60)	12 (68,4)	0,010
Infartos n (%)	2 (13,3)	21 (55,3)	0,005
Placentación deficiente n (%)	0 (0)	25 (65,8)	<0,0001

Tabla 51. Principales cambios histopatológicos observados con diferencias estadísticamente significativas.

En el grupo control hubo predominio sobre el grupo con preeclampsia en los siguientes hallazgos histopatológicos: el daño vascular en vellosidades, la inflamación crónica, los cambios en el estroma vellositario, las calcificaciones y la apoptosis evaluada mediante hematoxilina y eosina pero sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas. (Gráfico 42).

En la tabla 52 podemos observar los resultados del presente estudio y compararlos con los principales revisiones sobre el tema. Una de las dificultades encontradas en la revisión de la literatura, fue el carácter heterogéneo de las variables histopatológicas de los diversos estudios realizados, con ausencia de una nomenclatura histopatológica única, lo que limitó una óptima comparación. Una de las posibles explicaciones a este carácter heterogéneo de los resultados en las series publicadas es un muestreo limitado de la placenta, que en caso de ser extenso probablemente permitiría unos resultados más rigurosos y cercanos a la realidad.

	n	AP%	NF%	AA%	INF%	HV%	Corangiosis%	AB%	CAL%	TI%	CAM%
Moldenhauer 2003	158	45,6	-	-	37,3	32,9	-	5,8	-	19	16,5
Zhang 2006	350	21,4	-	-	32,3		10,9	6,3	-	18,9	8,6
Vinnanrs 2008	96	29,5	-	-	41,7	55,8	-	29,2	-	45,3	5,3
Vinnars 2008 (Síndrome HELLP)	82	24,7	-	-	23,5	69,5	-	9,9	-	11,9	3,7
Kim, 2015	1.779	-	-	10,2	-	-	-	-	-	-	-
Harsem	102	-	-	42	-		-	-	-	-	-
Stevens, 2012	107	-	-	38,31	83	10,5	-		22	-	-
Romero Gutiérrez 2008	46	-	-	-	13	95,6	76	-	34,7	73,9	-
Spinillo 2012	17	-	-	37,5	94,1	-	-	-	-	-	5,9
Ogge 2011	910	3	-	5,2	14	-	-	-	-	-	-
Silvera 2008	15	87,5	-	-	87,5	-	-	-	62,5	62,5	87,5
Presente estudio	38	65,8	36,8	47,4	55,3	-	18,4	-	68,4	-	13,2

Tabla 52. Estudios descritos en la literatura sobre hallazgos histopatológicos en casos de placentas con preeclampsia. AP: arteriopatía decidual, NF: necrosis fibrinoide, AA: aterosclerosis aguda, IC: infartos centrales, HV: hipermaduración vellositaria, AB: abruptio, CAL: calcificaciones, TI: trombo intervellositario y CAM: corioamnionitis.

Principales hallazgos histopatológicos en placentas de grupo control y comparación con PE

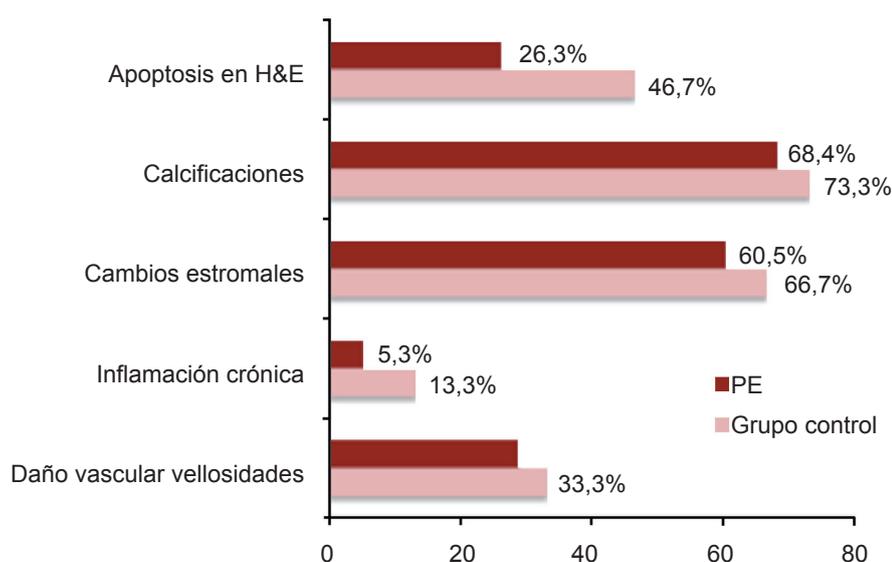


Gráfico 42. Principales hallazgos histopatológicos en el grupo control y comparación con grupo de placentas con preeclampsia (%).

En nuestro estudio destacan la arteriopatía decidual y aterosclerosis aguda con 65,8% y 47,4% en los casos de preeclampsia (el grupo control mostró un 13,3% de arteriopatía decidual y ausencia de aterosclerosis aguda).

La arteriopatía decidual o vasculopatía decidual constituye el principal tipo de cambio histopatológico asociado a las placentas con preeclampsia. Es un término que engloba al daño de las arteriolas de la decidua basal y que se manifiesta morfológicamente como aterosclerosis aguda y necrosis fibrinoide, mencionando algunos autores a la inflamación y la trombosis como otros rasgos adicionales a contemplarse dentro de esta categoría. Su etiología permanece sin aclararse, aunque se han descrito como posibles causas fenómenos oxidativos entre otros (Burton, 2004).

Al analizar las diversas series publicadas se identifican resultados contradictorios en relación a la arteriopatía decidual en la preeclampsia. Por un lado autores como Moldenhauer *et al* (2003), informaron una frecuencia alta de arteriopatía decidual (45,6%), y otros como Ogge *et al* (2011) refirieron una frecuencia baja de 3% (Tabla 51). Es evidente que para una determinación más certera de la frecuencia de la arteriopatía decidual, sería necesario examinar histopatológicamente la mayor extensión posible del lecho placentario, sitio donde se localiza la decidua basal, lo cual es poco factible en la práctica. Las diferencias en el muestreo de la decidua basal quizá podrían explicar estas grandes discrepancias en los informes sobre la frecuencia de la arteriopatía decidual.

Vinnars *et al* (2008) mencionaron que este hallazgo no es más frecuente en las mujeres con síndrome de HELLP, la variante clínica de mayor gravedad de la preeclampsia. En este estudio con 178 casos, 96 de placentas con preeclampsia y 82 placentas con preeclampsia con síndrome de HELLP se encontró arteriopatía decidual en 29,5% y 24,7% respectivamente sin diferencias estadísticamente significativas ($p=0,27$). Este autor tampoco encontró diferencias en otros cambios histopatológicos.

Posteriormente Vinnars *et al* (2011) en otro estudio sobre el tema, observaron una discreta asociación entre la arteriopatía decidual y el grado de preeclampsia, con una afectación ligeramente mayor por este cambio en los casos de preeclampsia severa y menor afectación en los de preeclampsia leve (35,3% y 22% respectivamente, $p=0,41$) en una serie con 157 pacientes con preeclampsia

(116 con preeclampsia severa y 41 con preeclampsia leve) y 157 con embarazo normal. Este grupo encontró 3,8% de arteriopatía decidual en las placentas sin preeclampsia.

En relación a lo descrito en las series publicadas, donde se mencionan diversos grados de afectación de arteriopatía decidual en las placentas con preeclampsia, nuestro estudio se ubica entre los que informan de mayor afectación por este cambio con 65,8% ($p=0,000$). A pesar de estas consideraciones contradictorias en resultados en diferentes series, resulta importante mencionar que algunos autores han descrito una relación entre los cambios histopatológicos y la edad gestacional, existiendo una mayor afectación en placentas de embarazos pretérmino (Zhang, 2006., Stevens, 2012.,). En esta línea se encuentra la serie de Zhang *et al* (2006) que una encontró relación entre la arteriopatía decidual y una menor edad gestacional (placentas de partos menores de 30 semanas de gestación), pues gran número de casos con daño vascular ocurrieron en el grupo pretérmino. Este grupo estudió 350 placentas de las cuales 241 fueron pretérmino y 109 a término, encontrando arteriopatía decidual en el 27% (64 casos) y 10% (11 casos) respectivamente.

El grupo de Stevens *et al* (2012) encontró una relación de la arteriopatía decidual y la tensión arterial diastólica así como con las semanas de gestación, con un mayor número de casos en el grupo con menor semanas de gestación.

Respecto a la necrosis fibrinoide y la aterosclerosis aguda, en nuestro trabajo se encontraron en el 36,8% y 47,4% del grupo de preeclampsia respectivamente, no encontrándose ningún caso con aterosclerosis aguda ni necrosis fibrinoide en el grupo control.

Descrita por primera vez en 1945 (Hertig, 1945) y denominada como aterosclerosis aguda en 1950 (Zeek y Assali, 1950), esta lesión afecta las arterias espirales y se caracteriza por depósito de macrófagos espumosos de localización subendotelial. El marcador histiocítico CD68 hace más evidente la presencia de estas células a nivel intramural. La afectación suele ser focal, no afecta a todas las arterias espirales, sino alguna aislada y no involucra toda la longitud del vaso sanguíneo (Zeek y Assali, 1950). La reducción de calibre de los vasos afectados por esta alteración podría determinar alteración del flujo placentario (Burton, 2009). Este cambio histopatológico ha sido descrito como hallazgo ocasional en placentas normales con valores de 0,4% en series de gran número de casos

como la de Kim *et al* (2015) con 7000 placentas normales y la de Harsem *et al* (2007) con el 14% de aterosclerosis en placentas normales. Ogge *et al* (2011) informaron de aterosclerosis aguda en el 0,2% de placentas normales ($n= 7,397, p=<0,001$).

Staff *et al* (2014) sugieren la posibilidad de que existan varias vías para el desarrollo de la aterosclerosis aguda y su gran semejanza morfológica con los estadios iniciales de la aterosclerosis de vasos de calibre mayor que ocurre en diferentes sitios como las arterias coronarias, entre otras. Esta hipótesis puede explicar que este cambio no se restringe únicamente a los vasos sanguíneos de placentas con preeclampsia encontrándose casos en el embarazo normal, la diabetes mellitus, el lupus eritematoso sistémico, el síndrome de anticuerpos antifosfolípidos y el crecimiento intrauterino restringido (Khong, 1987). Kim *et al* (2015) encontraron un 10,2% de aterosclerosis aguda en preeclampsia ($n= 1779$) y 1,7% de este cambio en crecimiento intrauterino restringido ($n= 1298$) observando además una relación entre la severidad de la aterosclerosis aguda y la preeclampsia precoz. Estos resultados contrastan con series como la de Ogge *et al* (2011) que encontró aterosclerosis aguda en el 5,2% de 910 casos con preeclampsia ($p=<0,001$).

Nuestra serie mostró un alto número de casos con aterosclerosis aguda en el 47,4% de placentas con preeclampsia que correspondieron a 18 casos ($p= 0,005$) frente a la ausencia de casos en las placentas de embarazos normales y lo que es más relevante, una importante presencia de aterosclerosis aguda en los casos de crecimiento intrauterino restringido (57,9%).

Harsen *et al* (2007) informan de aterosclerosis aguda en el 42% de casos con preeclampsia y Stevens *et al* (2012) identifican el 38,31% de aterosclerosis aguda en 107 casos de preeclampsia. Este último estudio aporta además datos como una tensión arterial diastólica media de 110 mmHg en los casos con vasculopatía decidual y embarazos entre 29 y 34 semanas de gestación mostrando tendencia de presentación de aterosclerosis aguda en grupo de preeclampsia a término que además se asoció a mayor elevación de la tensión arterial diastólica.

En nuestro estudio otro de los grandes cambios histopatológicos placentarios más clásicos en la preeclampsia, la necrosis fibrinoide, afectó mayoritariamente a los casos pretérmino en el 45,5% ($n= 10$) y el 25,1% ($n= 4$) de los casos de preeclampsia a término ($p= 0,429$). Este último cambio

es difícil de comparar pues lamentablemente no existen series al respecto. En la revisión de la literatura hemos observado que muchas series hacen referencia a la arteriopatía decidual sin concretar el hallazgo histopatológico específico.

Los infartos son más frecuentes y extensos, según Stevens *et al* (2011), en el grupo con preeclampsia que en el grupo control (39,7% y 17,1% respectivamente). En nuestra presente serie observamos también mayor número de infartos en el grupo de la preeclampsia que en el grupo control (55,3% y 13,3% respectivamente), siendo esta diferencia estadísticamente significativa. Por otro lado autores como Stevens *et al* (2012) y Silvera *et al* (2008) encontraron infartos en el 83% y 87,5%. Moldenhauer *et al* (2003) y Zhang *et al* (2006) reportaron infartos en el 37,3% y 32,3% respectivamente. Estos resultados contrastan con los de Romero-Gutiérrez *et al* (2008) que únicamente observaron infartos en el 13% de las placentas con preeclampsia y Ogge *et al* (2011) que informó de 14% de infartos (con 9,9% de infartos crónicos y 4,1% de infartos agudos o recientes). Comparado con los estudios realizados nuestros resultados obtienen porcentajes intermedios dada la diversidad de resultados encontrados. No encontramos diferencias entre el grupo de preeclampsia pretérmino y preeclampsia a término en este parámetro, pues ambos grupos mostraron resultados similares.

Otro de los hallazgos histopatológicos observados son la presencia de nodos sincitiales (agrupaciones de núcleos de sincitiotrofoblasto). Según Ogge *et al* (2011) el 26,7% de los casos de su serie mostró nodos sincitiales en las placentas con preeclampsia en comparación con el 6,8% de los casos control sin patología asociada ($p < 0,001$). Mifsud *et al* (2014) informan de afectación severa por nodos sincitiales en el 40% de placentas con preeclampsia ($n = 124$) y Spinillo *et al* (2012) describen un mayor grado de afectación por este cambio en las placentas con preeclampsia que además mostraron asociación con mayores alteraciones en el Doppler 41,2% ($n = 17$) frente al 21,4% en placentas del grupo control ($n = 28$). En nuestra serie todos los casos de preeclampsia y el 93,3% de los del grupo control mostraron nodos sincitiales sin diferencias estadísticamente significativas en este sentido, coincidiendo con los resultados de Romero-Gutiérrez *et al* (2008) que informaron 97,8% de nodos sincitiales en 46 casos de preeclampsia.

No obstante, en relación a este cambio histopatológico, en nuestro trabajo el grupo de pree-

clampsia pretérmino, mostró mayor grado de nodos sincitiales (afectación >50%) que el grupo de preeclampsia a término con 22,7% versus 6,3% respectivamente ($p= 0,031$) lo que sugiere que las placentas con preeclampsia pretérmino podrían sufrir un mayor grado de hipoxia que las preeclampsia a término, porque la aparición excesiva de nodos sincitiales se considera una respuesta a condiciones de hipoxia. Los resultados de algunos de los principales hallazgos histopatológicos y su comparación con otras series se hacen en la Tabla 51.

5.2. Diferencias histopatológicas entre el grupo de preeclampsia pretérmino y preeclampsia a término

Otro de los objetivos de este trabajo, fue la de identificar si existen diferencias en los hallazgos histopatológicos entre el grupo de la preeclampsia pretérmino y el de la preeclampsia a término en las placentas con preeclampsia.

Se ha sugerido que las placentas de preeclampsia de aparición precoz muestran un mayor grado de afectación de alteraciones tisulares que las placentas de preeclampsia a término (Safra *et al.*, 1995; Moldenhauer *et al.*, 2003; Ogge *et al.*, 2011). Autores como Von Dadelszen *et al.* (2003) han argumentado que la preeclampsia podría tratarse de dos entidades clínicas diferentes con mecanismos fisiopatológicos distintos, asociándose la preeclampsia precoz a entidades como crecimiento intrauterino restringido. La mayor presencia de alteraciones histopatológicas en la preeclampsia precoz podría sugerir que los cambios de hipoxia placentaria desempeñan un papel importante en la patogénesis de este tipo de preeclampsia, a diferencia de la preeclampsia de inicio tardío, observándose en estas últimas un menor grado de afectación histopatológica asociada a mala perfusión como la arteriopatía decidual (Ogge *et al.*, 2011).

En nuestro estudio encontramos un mayor número de casos con arteriopatía decidual, aterosclerosis aguda, necrosis fibrinoide y placentación deficiente en el grupo preeclampsia pretérmino en comparación con el de la preeclampsia a término. El 72,7% ($n= 16$) de las preeclampsia pretérmino tuvieron arteriopatía decidual en comparación con el 56,3% ($n= 9$) de los casos de preeclampsia a término ($p= 0,238$) lo cual aunque no mostró diferencias estadísticamente significativas, si es

revelador, en el sentido que pone en evidencia que a pesar de que nuestra muestra poblacional es limitada, la presencia de este tipo de daño es más evidente en el grupo de preeclampsia pretérmino (Gráfico 43).

Al analizar la distribución de la arteriopatía decidual en el grupo con preeclampsia vemos que tanto la aterosclerosis aguda como la necrosis fibrinoide muestran esta misma tendencia de mayor afectación en el grupo preeclampsia pretérmino, en comparación con el grupo con preeclampsia a término ya que el mayor número de casos con ambos cambios histopatológicos se presentaron en el grupo pretérmino con aterosclerosis aguda en el 54,6% y 37,59% en el grupo de preeclampsia pretérmino y preeclampsia a término respectivamente y necrosis fibrinoide en el 45,4% (n= 10) y 25,1% (n= 4) en el grupo pretérmino y a término respectivamente (p= 0,429).

Estos hallazgos son acordes con los resultados de Kim *et al* (2015) que mencionan también una mayor aterosclerosis aguda en el grupo pretérmino. Otros autores como Ogge *et al* (2001) en el análisis de 910 casos de placentas con preeclampsia, encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo pretérmino y a término.

Los resultados de nuestro estudio muestran similitud con los estudios mencionados anteriormente, apoyando la hipótesis de estos autores de que la preeclampsia precoz es una enti-

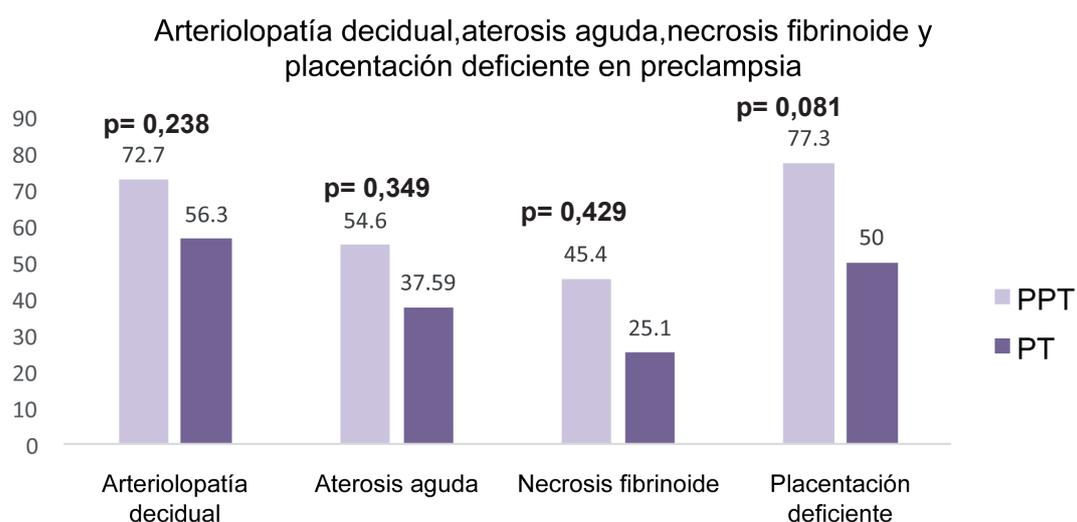


Gráfico 43. Arteriopatía decidual, aterosclerosis aguda, necrosis fibrinoide y placentación deficiente en grupo de placentas con preeclampsia (%).

dad diferente de la preeclampsia de inicio tardío. Aunque la muestra de nuestro trabajo está limitada por un número de casos no muy elevado, no es despreciable en comparación con otros estudios realizados, y probablemente los resultados histopatológicos entre el grupo pretérmino y a término aunque no sean estadísticamente significativos, si reflejan la tendencia ya mencionada de que el grupo pretérmino muestra mayor afectación histopatológica y mayor susceptibilidad al daño vascular en la decidua basal.(Salafia *et al.*, 1995; Moldenhauer *et al.*, 2003; Ogge *et al.*, 2011).

El resto de variables histopatológicas analizadas en el grupo con preeclampsia, aunque no mostraron cambios muy notables entre el grupo de preeclampsia pretérmino y de la preeclampsia a término, sí mostraron alguna diferencia como el grado de afectación por nodos sincitiales, que fue mayor en el grupo pretérmino en comparación con el grupo de preeclampsia a término (afectación >50% en el 22,7% y 6,3%, respectivamente).

También hallamos un porcentaje de mayor infiltrado inflamatorio en el grupo de preeclampsia pretérmino (22,7%) que en el grupo de preeclampsia a término (18,9%) con un ligero incremento de inflamación aguda en el grupo pretérmino en comparación con el de preeclampsia a término (18,2% y 6,3%).

Nuestros hallazgos histológicos en el grupo de la preeclampsia pretérmino coinciden con los descritos previamente por autores como Moldenhauer *et al* (2003) entre otros, apoyando la hipótesis de que las placentas pretérmino muestran mayor frecuencia de alteraciones en los vasos sanguíneos que las placentas de mujeres con preeclampsia a término. En este grupo de trabajo encontraron mayor arteriopatía decidual a menor edad gestacional con un 84% en menos de 28 semanas de gestación(n= 25), 51,1% entre las semanas 28 y 32 (n= 45), 50% entre las 33 y 36 semanas (n= 36) y un 19,2% de arteriopatía en embarazos mayores de 37 semanas (n= 52) en una muestra de 158 pacientes con preeclampsia (p= 0,0001).

Otro de los estudios más relevantes al respecto es el de Ogge *et al* (2011), con una de las series más extensas de casos de placentas con preeclampsia (n= 910), en este grupo observaron una mayor presencia de daño histopatológico relacionado con una menor edad gestacional, con presencia de

cambios en el 75% de las placentas entre 25 y 26 semanas, 55% en placentas de 33 a 34 semanas y presencia de cambios histopatológicos en 34% en placentas de 39 a 40 semanas ($p= 0,001$).

Quizá sea necesario realizar un estudio histopatológico más exhaustivo, con una muestra más extensa del tejido placentario en las placentas producto de preeclampsia pretérmino, ya que la evidencia apunta a que estas son más susceptibles de daño.

Los hallazgos histopatológicos en los que si encontramos diferencias estadísticamente significativas fueron en los porcentajes de nodos sincitiales, la presencia de incremento de células de Hoffbauer, cambios en estroma y calcificaciones (Tabla 52).

Variable histopatológica	PPT	PT	p
Nodos sincitiales <i>n</i> (%)	22 (16)	16 (100)	0,031*
Incremento den células de Hoffbauer <i>n</i> (%)	11 (50)	1 (6,3)	0,004*
Cambios estromales <i>n</i> (%)	14 (63,6)	9 (52,2)	0,004*
Calcificaciones <i>n</i> (%)	11 (50)	15 (93,8)	0,004*

Tabla 53. Cambios histopatológicos predominantes en grupo de preeclampsia. PPT: preeclampsia pretérmino, PT: preeclampsia a término.

5.3. Diferencias en apoptosis evaluada mediante hematoxilina y eosina

La evaluación de la apoptosis vellositaria con preparaciones de hematoxilina y eosina, aunque no fue sencilla, se pudo realizar gracias a que los cuerpos apoptóticos se tiñen intensamente con la hematoxilina y pueden visualizarse tras un estudio microscópico exhaustivo. Una de las dificultades encontradas fue la imposibilidad para distinguir si los cuerpos apoptóticos se localizaban únicamente en el citotrofoblasto o además en el sincitiotrofoblasto, debido a la íntima relación histológica de estas dos capas.

La apoptosis evaluada mediante hematoxilina y eosina fue mayor en el grupo control que en el de preeclampsia (46,7% y 26,3% respectivamente $p= 0,135$). En este sentido, el presente trabajo confirma lo señalado por la literatura que un mayor grado de apoptosis se evidencia en placentas a término. En el grupo de preeclampsia pretérmino la apoptosis fue mayor que en el de preeclampsia a término con 31,8% y 18,8% de apoptosis respectivamente ($p= 0,301$).

Es importante destacar que en nuestra serie la apoptosis evaluada mediante hematoxilina y eo-

sina mostró diferencias en el grupo con preeclampsia, siendo mayor en el grupo de preeclampsia pretérmino en comparación con el de la preeclampsia a término (31,8% y 18,8%, respectivamente, $p=0,301$), probablemente indicando un mayor grado de hipoxia en el grupo de preeclampsia pretérmino y estableciendo una clara diferencia con las de preeclampsia a término.

5.4. Expresión inmunohistoquímica de p53 y p21 en el citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto de las vellosidades placentarias

La evaluación inmunohistoquímica de estos marcadores sin utilización de microscopios con sistema de análisis de imagen complicó notablemente la valoración a nivel óptico, principalmente por la dificultad de hacer la distinción entre citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto en las vellosidades terminales, cuyas capas epiteliales se encuentran muy adelgazadas.

Encontramos diferencias en la inmunohistoquímica entre el grupo control y el grupo con preeclampsia que quizá podrían sugerir que aunque a nivel óptico (con hematoxilina y eosina) no se detecte, la apoptosis esté incrementada en el grupo con preeclampsia.

5.4.1. Expresión inmunohistoquímica de p53 en placentas de embarazo normal y preeclampsia

El sincitiotrofoblasto o capa multinucleada del trofoblasto de la vellosidad placentaria establece contacto directo con la sangre materna. Se genera a través de mitosis y fusión de la capa de citotrofoblasto subyacente. En la preeclampsia como se ha mencionado anteriormente, este recambio está alterado con la presencia de una mayor apoptosis y determina la formación de agregados nucleares sincitiales (Leung *et al.*, 2001; Ishihara *et al.*, 2002., Askelund, 2011). El mecanismo preciso que promueve la apoptosis en las placentas con preeclampsia es desconocido, y algunos autores sugieren que *in vivo* es resultado de la hipoxia y daño por reperfusión e *in vitro* determinado por la hipoxia y estrés oxidativo (Hung, 2006; Heazell, 2008).

Una pieza clave en la regulación de la apoptosis como resultado del daño intrínseco es p53, un gen supresor tumoral responsable de la estabilidad genómica. En respuesta a la lesión celular, la p53

promueve la transcripción de elementos involucrados en la apoptosis y el ciclo celular como p21, el factor activador de las proteasas apoptóticas (APAF-1), el factor modulador de la apoptosis (up-regulated modulator of apoptosis PUMA) y Bax (Sharp, 2014). Bajo circunstancias normales la p53 se encuentra en bajas concentraciones debido a la acción antagonista de Mdm2 que lo remueve del núcleo. La proteína p53 promueve la transcripción de Mdm2 estableciendo así una retroalimentación negativa que permite un balance necesario para la supervivencia de la célula.

La expresión inmunohistoquímica de la proteína p53 en la placenta se ha venido estudiando desde hace algunos años. Marzusch *et al* (1995) describieron ya la presencia inmunohistoquímica de p53 en la mayoría de las placentas de su serie, en los tres trimestres de la gestación (n= 20), con positividad en el núcleo de algunas células trofoblásticas, casi siempre en el citotrofoblasto y solo de forma aislada en el sincitiotrofoblasto (10 /10 del primer trimestre, 5/5 del segundo trimestre y 4/5 del tercer trimestre). Este grupo encontró un grado de expresión menor al 5% con una intensidad de predominio débil y solo ocasionalmente marcada sin hacer mención del significado estadístico. 10 de las placentas de este grupo fueron producto de un aborto, dos presentaron corioamnioitis y el resto no presentaron patología asociada.

Posteriormente se realizan otros estudios de la expresión inmunohistoquímica de la p53 en placentas con algunas patologías como la mola hidatidiforme (Haidacher, 1995). Existen algunas referencias aisladas, en las que se hace referencia al aumento en la expresión de p53 en placentas con preeclampsia (Sharp, 2014, Heazell *et al.*, 2005). La presencia de una mayor expresión de p53 en el trofoblasto de las placentas con preeclampsia y crecimiento intrauterino restringido, para algunos sugiere que p53 constituya un factor de regulación en la muerte de células del trofoblasto (Crocker, 2007., Sharp, 2011). Resultados opuestos han sido observados por Jeschke *et al* (2006), que observaron una mayor expresión de p53 en casos de HELLP, pero sin encontrar diferencias en los casos de preeclampsia sin HELLP asociado. Otros estudios han detectado un incremento en la expresión inmunohistoquímica de p53 en algunas condiciones como el retraso en el crecimiento intrauterino (Levy *et al.*, 2002; Heazell *et al.*, 2011., Jeschke, 2006). En esta misma línea se ha informado por el grupo de Mendilcioglu *et al* (2011) que no existen diferencias en la expresión inmunohistoquímica de p53, Bax y Bcl2 en 20 placentas de mujeres con preeclampsia y 14 del grupo control.

Heazell *et al* (2008) encontraron un aumento en la expresión de p53 y p21 en el citotrofoblasto y células estromales de tejido placentario obtenido mediante cultivo y sometido de forma artificial a hipoxia, sugiriendo la importancia de investigar más al respecto. Sharp *et al* (2014) en placentas con preeclampsia de embarazos de más de 28 semanas de gestación (n= 8), o preeclampsia de inicio tardío encontrando que la expresión de las proteínas p53, p21 y Bax fue significativamente mayor en los embarazos complicados por preeclampsia que en el grupo control (n= 8), determinando además menores niveles de la proteína Mdm2 (Sharp *et al.*, 2014). En ese estudio se observó que aunque los niveles mRNA de p53 no mostraron un incremento, la expresión inmunohistoquímica mostró mayor expresión en el grupo con preeclampsia con positividad tanto en el citotrofoblasto como en el sincitiotrofoblasto, en contraste con una expresión ocasional en el sincitiotrofoblasto de las placentas normales usadas como control. La elevada expresión de p53 podría promover la transcripción de p21, un inhibidor del ciclo celular, para inducir autofagia. En la preeclampsia la p53 podría estar involucrada a diferentes niveles de la disfunción celular (Sharp *et al.*, 2014). La p53 podría tener algún papel en el incremento de la apoptosis en placentas de mujeres con preeclampsia.

Comparando el presente estudio con el de Sharp *et al* (2014), resulta novedoso evaluar la expresión inmunohistoquímica de p53, dado que no existen estudios al respecto en el grupo de placentas con preeclampsia precoz, ya que se han realizado en placentas con preeclampsia de inicio tardío (Sharp, 2011) y en embarazos con crecimiento intrauterino restringido (Levy, 2002, Heazell, 2011). La presencia de la intensidad de la p53 en el citotrofoblasto en nuestro estudio fue claramente mayor en las placentas con preeclampsia que en el grupo control, con expresión débil, moderada y marcada en el 28,9%, 36,8% y 34,4% en el grupo preeclampsia, contrastando con el grupo control en el que la mayor parte de los casos de placentas normales mostraron predominantemente una expresión de intensidad débil (73,3%) y además tuvieron menor expresión moderada que el grupo con preeclampsia en el 26,7% (p= 0,005).

En ambos grupos predominó la ausencia de tinción para p53 en el sincitiotrofoblasto con 73,3% y 92,1% de negatividad para p53 en grupo control y con preeclampsia respectivamente. Nuestra serie muestra claramente la presencia de tinción para p53 en el citotrofoblasto en todas las placentas

estudiadas, lo que muestra una similitud con los resultados encontrados por autores como Fulop *et al* (1998) y Marzusch *et al* (1995). Otros autores como Fulop *et al* (1998) en una serie de 18 casos de placentas normales encontraron positividad aislada y débil para p53 en menos del 10% de células con expresión limitada al citotrofoblasto y ausencia de marcaje en el sincitiotrofoblasto.

Levy *et al* (2002) en una serie pequeña de placentas normales (n= 4) y placentas con crecimiento intrauterino restringido y preeclampsia (n= 7) encontraron que las placentas con crecimiento intrauterino restringido mostraban una mayor expresión inmunohistoquímica de p53 en el citotrofoblasto ($p < 0,001$). Las placentas del grupo control mostraron una positividad de p53 en el citotrofoblasto del 19,7% y las del grupo con preeclampsia y crecimiento intrauterino restringido mostraron 36,9%. En este estudio se evaluaron 20 campos de alto aumento en cada caso y los casos incluidos oscilaron entre las 23 y 42 semanas de gestación. Este grupo realizó además la técnica de western blot con resultados similares a los de la inmunohistoquímica, encontrando el doble de expresión de p53 en los casos de preeclampsia y crecimiento intrauterino restringido en comparación con las placentas normales ($p = 0,002$). En este grupo encontraron mayor presencia de nodos sincitiales en placentas con preeclampsia.

Por otra parte Heazell *et al* (2011) realizó un estudio comparativo entre placentas normales (n= 6) y con crecimiento intrauterino restringido (n= 6), en el que refiere una mayor expresión de p53 y mayor apoptosis en las del grupo con crecimiento intrauterino restringido ($p = < 0,05$). Además observó una elevación del mRNA de p53 en las placentas con crecimiento intrauterino restringido comparadas con el grupo control, con diferencias en la localización e intensidad de expresión inmunohistoquímica de la p53 en ambos grupos, encontrando una expresión predominantemente nuclear débil y ocasional en el citotrofoblasto de los casos control e incremento en la expresión de p53 en los casos de crecimiento intrauterino restringido, con una localización citoplasmática en el citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto, característica cuando menos atípica, dado que la expresión usual de este marcador es nuclear. Este mismo grupo encontró una mayor expresión de mRNA de p21 y Bax en el crecimiento intrauterino restringido y mayor expresión inmunohistoquímica de p21 en el crecimiento intrauterino restringido, siendo dicha expresión de localización nuclear en citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto, sin demostrarse tinción en el

citoplasma, para ninguno de estos marcadores. Según Heazell *et al* (2011) estos hallazgos sugieren que las proteínas p53, Mdm2, p21, Bax, Bak y Bcl-2 esenciales en la regulación de la apoptosis, se encuentran presentes en el trofoblasto vellositario y presentan alteraciones en las placentas con crecimiento intrauterino restringido. Este grupo no encontró diferencias en la expresión de Mdm2, Bak and Bcl-2 en el grupo control y grupo con crecimiento intrauterino restringido, sugiriendo que en la placenta normal el trofoblasto está “protegido” contra la apoptosis a través de la expresión intensa de Mdm2 y Bcl-2, que antagonizan los efectos de las proteínas p53, Bax o Bak respectivamente (Heazell, 2011).

Nuestra serie no mostró una expresión citoplásmica significativa para p53 ni en el citotrofoblasto ni en el sincitiotrofoblasto. En términos generales y aunque no abundan los trabajos al respecto, el presente trabajo se encuentra dentro de los que identifican una mayor expresión tisular de p53 en el citotrofoblasto. Es de interés mencionar que la ausencia de tinción de p53 en el sincitiotrofoblasto fue observada por autores como Sharp *et al* (2014) .

En el grupo con preeclampsia observamos una proporción más alta de la tinción moderada y la tinción marcada para p53 en comparación con el grupo normal, que se acompañó de mayor grado en la expresión inmunohistoquímica entre el 10 y el 50% (50%) n= 19, observándose además una positividad superior al 50% en el 18,4%, lo cual fue estadísticamente significativo (Gráficos 44 y 45).

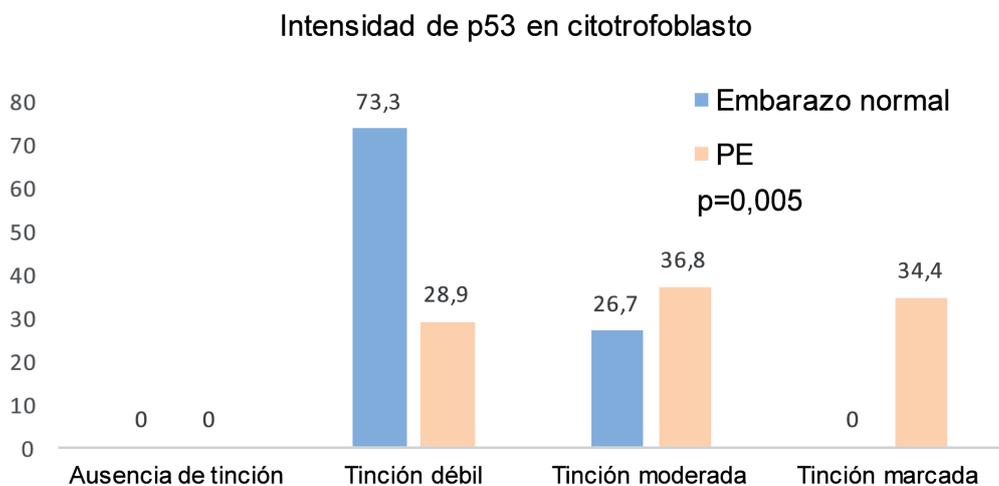


Gráfico 44. Intensidad inmunohistoquímica de p53 en el citotrofoblasto de embarazo normal y preeclampsia (PE) (%).

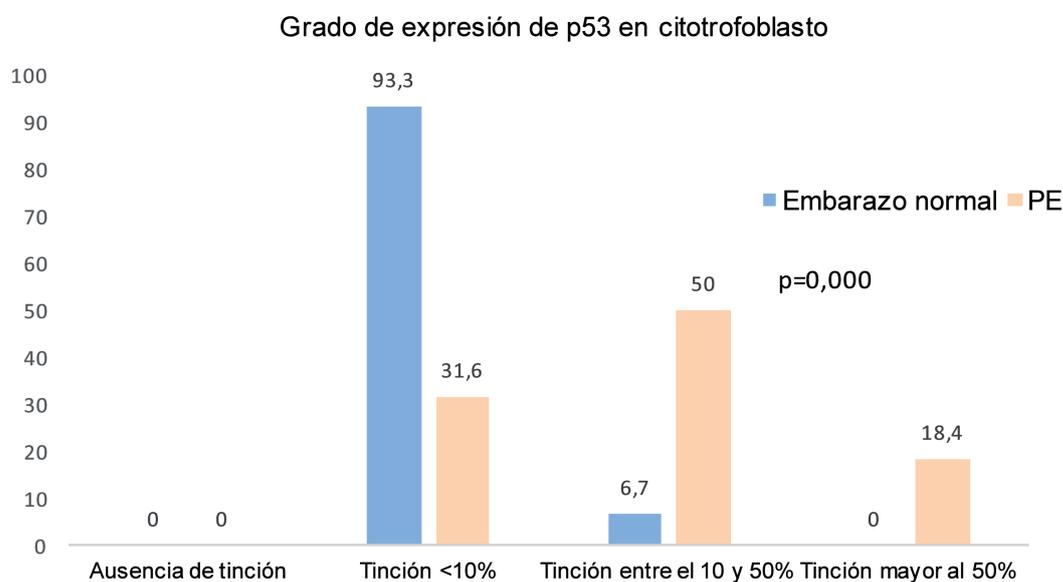


Gráfico 45. Porcentaje de expresión de p53 en el citotrofoblasto en grupo control y grupo con preeclampsia (PE).

Es llamativo el predominio de la ausencia de tinción en los nodos sincitiales en nuestra serie, con solo un caso de tinción de forma focal, por lo que se puede considerar en términos generales que en este estudio no se encontró tinción para p53 en el sincitiotrofoblasto.

Lamentablemente dada la heterogeneidad de las escasas series publicadas, no ha sido posible realizar una comparación con nuestro trabajo, en el cual se encontró una mayor intensidad y mayor distribución de la expresión de p53 en el citotrofoblasto del grupo con preeclampsia que en el grupo control. Algunos autores como Levy *et al.*, 2002 mencionan que la p53 en la placenta patológica se incrementa a través de la apoptosis inducida por hipoxia. Este fenómeno de apoptosis por hipoxia se ha observado en tejidos como neuronas y células musculares del miocardio.

En relación a otros miembros de la familia Cip/Kip tales como p21, p27 y p57, autores como Unek *et al* (2014), refieren aumento de la expresión inmunohistoquímica de p27 tanto en sincitiotrofoblasto como en citotrofoblasto y células estromales vellositarias ($p < 0,001$) y mayor expresión de p57 en citotrofoblasto sin tinción para sincitiotrofoblasto ($p < 0,05$), en un estudio con preeclampsia ($n = 10$) en comparación con el grupo control ($n = 10$). En este trabajo el índice proliferativo Ki-67 y el PCNA fue mayor en el citotrofoblasto del grupo con preeclampsia, sin expresión

de Ki-67 en el sincitiotrofoblasto ($p < 0,05$). Lo anterior es mencionado dado que existen escasas referencias bibliográficas al respecto a la expresión inmunohistoquímica de los miembros de esta familia Cip/Kip en placentas con preeclampsia.

El sincitiotrofoblasto solo mostró positividad para la p53 con intensidad débil en el 23,7% ($n = 4$) de los embarazos normales y en el 7,9% ($n = 3$) de los casos de placentas con preeclampsia ($p = 0,090$).

5.4.2. Expresión inmunohistoquímica de p21 en placentas de embarazo normal y preeclampsia

Pocos estudios hacen referencia concreta a la expresión de p21 en placentas normales y con preeclampsia, además de que dichos informes hacen descripciones muy escuetas de sus resultados.

Korgun *et al* (2006) realizó uno de los escasos estudios inmunohistoquímicos para detección de p21 en placentas normales, con 18 casos entre las 6 y 12 semanas, empleando una escala semicuantitativa similar a la usada por el presente estudio sin referir el grado de extensión de dicha expresión, encontrando inmunoreactividad para la p21 en el sincitiotrofoblasto de las vellosidades y en algunas células estromales pero sin evidencia de tinción en el citotrofoblasto. Este autor refiere positividad para p27 y p57 en el citotrofoblasto. Nuestro trabajo se realizó en placentas del segundo y tercer trimestre y no disponemos de material para comparar la expresión de p21 con la serie de Korgun, observando positividad tanto en el citotrofoblasto como en el sincitiotrofoblasto sin diferencias apreciables en el grupo control ($n = 15$).

En relación la inmunohistoquímica de la p21 su estudio se ha enfocado a condiciones diversas además de los embarazos normales. Fulop *et al* (1998) encontraron positividad débil y aislada nuclear (menor al 10%) para p21 únicamente en el sincitiotrofoblasto, sin expresión en el citotrofoblasto en las placentas normales. Estos mismos autores encontraron además una mayor positividad inmunohistoquímica en las placentas con mola completa y coriocarcinoma (Fulop *et al.*, 1998). En comparación con la placenta normal o mola parcial, la tinción con p21 fue significativamente mayor en la mola completa ($p < .0001$, $P < .0001$) y coriocarcinomas respectivamente ($p < .0001$, $P < .0001$). Las placentas con mola parcial mostraron mayor tinción para p21 ($p < .005$) que las placentas normales.

En años recientes se ha detectado RNA libre en plasma en varias enfermedades maternas, con lo

que se ha sugerido que estos podrían emplearse como marcadores de enfermedad en condiciones como la hipoxia, además de la preeclampsia.

Heazell *et al* (2011) fue uno de los primeros en estudiar la p21 en plasma con correlación inmunohistoquímica, realizando un estudio comparativo entre placentas normales (n= 6) y placentas con el crecimiento intrauterino restringido (n= 6), identificando que en las vellosidades de la placenta normal la expresión inmunohistoquímica de p21 se limitaba ocasionalmente a núcleos del citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto sin tinción de citoplasma. En el crecimiento intrauterino restringido se encontró mayor expresión de p21 en citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto sin concretar la distribución de esta expresión. La expresión de mRNA de p21 y Bax fue significativamente mayor en las placentas de embarazos complicados por crecimiento intrauterino restringido. Quizá sea necesario plantearse la realización de más estudios que realicen una correlación con énfasis en los marcadores séricos e inmunohistoquímica de p21. Ashur-Fábian *et al* (2012) efectuó una búsqueda RNA en plasma, de la expresión génica de p21 y Hif1alfa mediante RT-PCR en tiempo real, en 132 casos de mujeres de las cuales 41 mostraron embarazos complicados por preeclampsia y crecimiento intrauterino restringido, con el hallazgo de una asociación entre la expresión de p21 y Hif1alfa y el crecimiento intrauterino restringido sugiriendo que podría ser un buen marcador de hipoxia en los embarazos. De un total de 41 casos, el 76% de los casos con patología subyacente (n= 31) mostraron presencia de p21 en comparación con el 25% (n= 18) de los embarazos normales ($p < 0,001$). En este mismo sentido Sharp *et al* (2014) encontró que los niveles de mRNA p21, así como su expresión inmunohistoquímica fueron mayores en los casos de preeclampsia.

En los embarazos normales de este mismo estudio referido, la expresión inmunohistoquímica se limitó al núcleo del citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto, sin evidencia de tinción citoplásmica. El presente estudio en ese sentido, coincide con este autor ya que en ninguno de los casos se observó tinción en el citoplasma, estando restringida la positividad al núcleo celular como es de esperar para este marcador. Lamentablemente este autor no hace referencias a la distribución de dicha expresión este marcador en el apartado de la inmunohistoquímica en esta corta serie (8 casos con preeclampsia y 8 de embarazos control).

En el actual trabajo la tinción de inmunohistoquímica para la p21 en el citotrofoblasto fue mayor en intensidad y principalmente en el grado de expresión en el grupo de preeclampsia en comparación con el grupo control. La intensidad fue marcada en el 20% y 55,3% en grupo control y preeclampsia, respectivamente. En el citotrofoblasto del grupo de preeclampsia se observó una mayor expresión con positividad < 10% en el 13,2%, entre el 10 al 50% en 44,7% y >50% en 42,1%. El grupo control mostró predominio de la expresión <10% en 73,3% y expresión entre el 10 y el 50% del 23,7%. Ningún caso control mostró expresión de más del 50% lo cual fue estadísticamente significativo ($p= 0.000$).

5.4.3. Expresión inmunohistoquímica de p53 en placentas con preeclampsia pretérmino y preeclampsia de término

Una característica a destacar en nuestro trabajo, es que aunque existen escasos estudios en referencia a la inmunohistoquímica de p53 y p21 en placentas con preeclampsia y el crecimiento intrauterino restringido, las referencias son casi inexistentes concretamente en relación a estudios de inmunohistoquímica de p53 y p21 en placentas con preeclampsia en gestaciones pretérmino, por lo que este estudio resulta relevante en este sentido.

Los grupos de preeclampsia pretérmino y de la preeclampsia a término de las placentas con preeclampsia mostraron diferencias notables en la expresión de los marcadores de inmunohistoquímica. El grupo de la preeclampsia pretérmino mostró mayor tinción de intensidad marcada para p53 en el citotrofoblasto, en comparación con el de la preeclampsia a término (45,5% y 18,8%, respectivamente, $p= 0,025$). Sin embargo al examinar el porcentaje de tinción para p53 en este mismo tipo celular se encontró que el grupo de la preeclampsia a término mostró mayor grado de expresión (>50%) en el tejido examinado, con 25% en comparación con el 13,6% del grupo de preeclampsia pretérmino ($p= 0,598$). El grupo de la preeclampsia a término mostró una mayor expresión de p53 en citotrofoblasto en comparación con el grupo de preeclampsia pretérmino (Gráfico 46).

El sincitiotrofoblasto mostró una intensidad débil en el 13,6% en comparación con la ausencia de tinción de sincitiotrofoblasto para p53 en el grupo de la preeclampsia a término ($p= 0,183$),

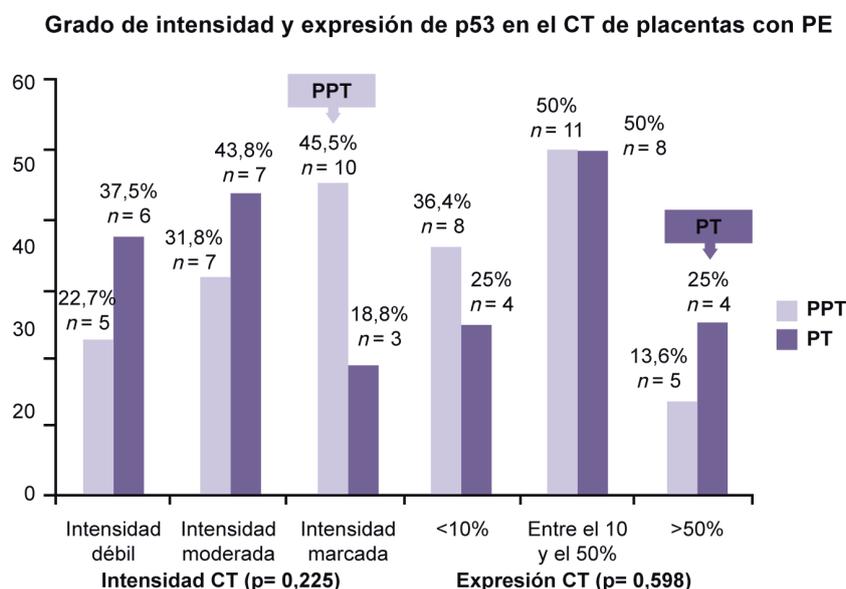


Gráfico 46. Inmunohistoquímica de p53 en placentas con preeclampsia (PE). Intensidad y expresión en las células de citotrofoblasto (CT) en el grupo de preeclampsia pretérmino (PPT) y en el grupo de preeclampsia a término (PT).

con resultados similares para la expresión de p53 en sincitiotrofoblasto. El grupo de la preeclampsia pretérmino mostró un ligero predominio de tinción de p53 tanto en intensidad como en porcentaje de expresión ya que en el grupo de la preeclampsia a término no se encontró tinción en ningún caso en este tipo celular.

5.4.4. Expresión inmunohistoquímica de p21 en placentas con preeclampsia pretérmino y preeclampsia a término

La intensidad de la p21 fue mayor en el grupo de la preeclampsia pretérmino, tanto en el citotrofoblasto como en el sincitiotrofoblasto ($p= 0,006$ y $p= 0,131$ respectivamente) ya que en ambos tipos celulares del revestimiento vellositario, este marcador mostró los mayores grados de intensidad con tinción nuclear marcada. El grupo de la preeclampsia pretérmino mostró una mayor intensidad de tinción de p21 en el citotrofoblasto de 77,3% en comparación con un 25% en el grupo de la preeclampsia a término ($p= 0,006$). El sincitiotrofoblasto mostró una intensidad marcada para p21 en el grupo de la preeclampsia pretérmino de 50% en comparación con el grupo de la pree-

5.5. Relación de apoptosis evaluada mediante H&E y expresión inmunohistoquímica de p53 y p21 en placentas con preeclampsia

5.5.1. Relación de apoptosis evaluada mediante H&E y expresión inmunohistoquímica de p53 en placentas con preeclampsia

En el grupo de placentas con preeclampsia encontramos una relación entre la apoptosis evaluada mediante tinción de hematoxilina y eosina y la intensidad de la p53 en el citotrofoblasto, así el mayor número de casos con apoptosis evaluada con hematoxilina y eosina ($n=8$) se relaciona con una mayor intensidad de tinción de p53 marcada y moderada (80% y 20% de la apoptosis evaluada con hematoxilina y eosina, respectivamente), siendo esta asociación estadísticamente significativa ($p=0,001$), lo que sugiere una buena sensibilidad de la p53 para tinción de citotrofoblasto en casos de apoptosis. Además los casos de apoptosis evaluada mediante hematoxilina y eosina se asociaron con una mayor expresión de p53 (Gráfico 48). No hemos encontrado estudios que correlacionen la apoptosis evaluada mediante hematoxilina y eosina y la tinción inmunohistoquímica de p53.

Apoptosis evaluada mediante H&E e intensidad de tinción de p53 en citotrofoblasto

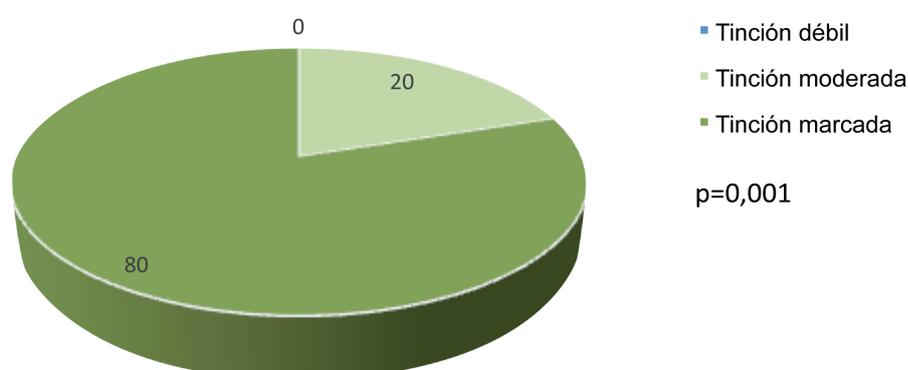


Gráfico 48. Relación de porcentaje de apoptosis evaluada mediante hematoxilina y eosina (H&E) e intensidad de tinción para p53 en citotrofoblasto de grupo con preeclampsia (%).

5.5.2. Relación de apoptosis evaluada mediante hematoxilina y eosina y expresión inmunohistoquímica de p21 en placentas con preeclampsia

Todos los casos de apoptosis evaluada mediante hematoxilina y eosina en este grupo, se relacionaron con positividad para p21, el 50% del total de casos de apoptosis evaluada con hematoxilina y eosina mostraron intensidad de p21 marcada, el 40% de los casos de estos casos de apoptosis intensidad moderada, únicamente un caso de apoptosis evaluada con hematoxilina y eosina mostró intensidad de tinción débil para p21.

Ya que todos los casos de apoptosis evaluada con hematoxilina y eosina mostraron tinción para p21 en el citotrofoblasto y además encontramos que los casos de apoptosis tuvieron mayores grados de intensidad y expresión para p21, este resultado sugiere que la inmunohistoquímica podría constituir una herramienta complementaria en la evaluación de este fenómeno en estudios futuros por su alta sensibilidad de detección. La p21 también mostró positividad en el citotrofoblasto de las vellosidades de placentas con preeclampsia sin detectar apoptosis mediante hematoxilina y eosina, pudiendo tener su explicación en que probablemente con la visualización mediante la técnica de hematoxilina y eosina, algunos casos con apoptosis puedan pasar desapercibidos y la técnica para identificar la expresión inmunohistoquímica de p21 los detecte. En este sentido, podría constituir una línea de investigación interesante para desarrollar en el futuro.

La mayor parte de casos con apoptosis evaluada mediante hematoxilina y eosina en el grupo con preeclampsia se relacionaron con mayores grados de intensidad de tinción de la p21, identificándose un 50% de apoptosis con tinción marcada, 30% con tinción moderada y 20% con tinción de intensidad débil ($p= 0,542$) en el sincitiotrofoblasto.

La expresión de la p21 en el sincitiotrofoblasto en los casos con apoptosis fue del 40% en más del 50% del tejido evaluado, del 50% entre el 10 y 50% del tejido y un 10% de la apoptosis mostró expresión en <10% del tejido ($p= 0,605$) (Gráfico 52).

En nuestro conocimiento no existe en la literatura información sobre la asociación entre la apoptosis evaluada mediante hematoxilina y eosina y la p21.

En la literatura se menciona que en las placentas normales la mayor actividad de apoptosis ocurre en

el sincitiotrofoblasto no atribuyendo actividad notoria al citotrofoblasto. Algunos autores mencionan que la apoptosis del sincitiotrofoblasto se incrementa del 2 al 3% de un embarazo normal al 5 a 6% en embarazos complicados con preeclampsia o crecimiento intrauterino restringido (Leung et al., 2001., Ishihara et al., 2002). De nuestros resultados se podría desprender un dato interesante como que las placentas con preeclampsia relacionan mayor presencia de apoptosis, ya que la intensidad y expresión de la p21 en el grupo preeclampsia mostró una relación estrecha con la apoptosis evaluada con hematoxilina y eosina.

5.6. Relación del crecimiento intrauterino restringido, tensión arterial y variables histopatológicas

El crecimiento intrauterino restringido mostró relación con la arteriopatía decidual pues el 73,7% de los casos de crecimiento intrauterino restringido la mostraron ($p= 0,346$).

Por otro lado resulto interesante que en nuestro trabajo las mayores cifras de tensión arterial sistólica pico y diastólica pico se asociaron a arteriopatía decidual de más severidad (174mmHg y 104,23 mmHg respectivamente, $p= 0,586$). La asociación entre la arteriopatía decidual y las cifras más altas de tensión arterial también fueron mayores en relación con la aterosclerosis aguda, un tipo concreto de daño dentro de la arteriopatía decidual ya que los casos con aterosclerosis aguda de mayor gravedad asociaron mayores cifras de tensión arterial sistólica pico y tensión arterial diastólica pico (174mmHg y 120 mmHg, $p= 0,255$). Siguiendo esta tendencia las mayores cifras de tensión arterial sistólica pico y diastólica pico se relacionaron con la necrosis fibrinoide con 188,25 mmHg y 113,5 mmHg respectivamente ($p= 0,146$).

5.7. Altas resistencias uterinas y variables histopatológicas e inmunohistoquímicas

Se encontraron altas resistencias uterinas en 34 casos de preeclampsia. Los 19 casos se catalogaron como bajas resistencias uterinas (4 de preeclampsia y 15 de embarazo normal).

5.7.1. Relación de las altas resistencias uterinas y arteriopatía decidual

Del total de casos con altas resistencias uterinas, el 55,9% ($n= 19$) mostraron presencia de arteriopatía decidual y un 44,1% no presentó este hallazgo ($p= 0,250$).

5.7.2. Relación de las altas resistencias uterinas y la inmunohistoquímica de p53 y p21

Al estudiar las posibles diferencias en la intensidad y grado de expresión inmunohistoquímica de p53, no encontramos datos significativos ni diferencias llamativas, ya que tanto los casos con bajas resistencias (19) como los de altas resistencias (34) mostraron semejanza tanto en intensidad como grado de expresión tanto en el citotrofoblasto, como en el sincitiotrofoblasto.

Por otro lado resultó interesante que las altas resistencias si mostraron diferencias con las bajas resistencias uterinas, con la evaluación inmunohistoquímica de la p21 en el citotrofoblasto. La tinción inmunohistoquímica del citotrofoblasto fue de mayor intensidad en el grupo de altas resistencias con un 41,2% de intensidad moderada y 47,1% de intensidad marcada, en comparación con el 36,8% y 42,1% que se observó para estos mismos grados de intensidad de p21. Además encontramos que el grado de expresión de la p21 en el citotrofoblasto fue mayor en los casos de altas resistencias uterinas. 44,1% de las altas resistencias mostraron expresión entre el 10 y el 50% y 38,2% en más de 50% del tejido, en comparación con las bajas resistencias con 31,6% y 15,8% respectivamente para dichos grados ($p= 0,024$).

6. Conclusiones

CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA Y EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA
DE LOS MARCADORES p53 Y p21 EN EL TROFOBLASTO PLACENTARIO
EN PREECLAMPSIA

1. El grupo de placentas con preeclampsia mostró significativamente una mayor frecuencia de aterosclerosis aguda, necrosis fibrinoide, infartos y placentación deficiente, contrastando con el grupo de placentas sin enfermedad, en las que no se detectaron estos cambios.

2. Las placentas con preeclampsia mostraron diferencias histopatológicas respecto a placentas no patológicas, identificándose una mayor frecuencia de arteriopatía decidual, lo que evidencia una mayor susceptibilidad al daño vascular estructural.

3. La intensidad y el grado de expresión inmunohistoquímica de la p53 en el citotrofoblasto fue significativamente superior en las placentas con preeclampsia que en el grupo control.

4. La tinción inmunohistoquímica de la p21 fue mayor en el citotrofoblasto en las placentas con preeclampsia, tanto en la intensidad como en el grado de expresión, que en el grupo control. También en el sincitiotrofoblasto el grado de expresión fue significativamente superior en el grupo de preeclampsia, que en el grupo sin patología.

5. Las placentas con preeclampsia pretérmino mostraron significativamente una mayor expresión inmunohistoquímica de la p21 en el citotrofoblasto, que en los casos de preeclampsia a término.

6. Encontramos una asociación significativa entre la presencia de altas resistencias uterinas y un mayor grado de expresión inmunohistoquímica de la p21 en el citotrofoblasto, hallazgo que podría constituir una interesante línea de investigación futura.

7. La evaluación de la apoptosis placentaria mediante hematoxilina y eosina en nuestro estudio ha resultado factible, sin embargo, las técnicas inmunohistoquímicas pueden constituir una herramienta complementaria y valiosa, ya que permite el marcaje de células apoptóticas facilitando la cuantificación de este fenómeno al visualizar mejor los núcleos.

8. Consideramos necesario desarrollar una guía o protocolo internacional para el estudio histopatológico de la placenta, que paliara las dificultades a las que se enfrenta el patólogo en este tema. También es imprescindible la formación en patología perinatal, como parte de la especialidad médica de Anatomía Patológica, para poder evaluar e integrar los conocimientos de histopatología y aplicarlos a este área tan amplia y poco conocida.

7. Bibliografía

1. **Aardema, M. W., Oosterhof, H., Timmer, A., Van Rooy, I., & Aarnoudse, J. G.** (2001). *Uterine artery Doppler flow and uteroplacental vascular pathology in normal pregnancies and pregnancies complicated by pre-eclampsia and small for gestational age fetuses*. *Placenta*, 22(5), 405-411.
2. **Aban, M., Cinel, L., Arslan, M., Dilek, U., Kaplanoglu, M., Arpaci, R., & Dilek, S.** (2004). *Expression of nuclear factor-kappa B and placental apoptosis in pregnancies complicated with intrauterine growth restriction and preeclampsia: an immunohistochemical study*. *Tohoku journal of experimental medicine*, 204(3), 195-202.
3. **Allaire, A. D., Ballenger K. A., Wells, S. R., McMahon, M. J., Lessey, B. A.** (2000). *Placental apoptosis in preeclampsia*. *Obstet Gynecol. Aug*, 96(2), 271-6.
4. **American College of Obstetricians and Gynecologists.** (2013). *Hypertension in pregnancy. Report of the American college of obstetricians and gynecologists' task force on hypertension in pregnancy*. *Obstetrics and gynecology*, 122(5), 1122.
5. **Arduini, D., Rizzo, G.** (1990). *Normal values of Pulsatility Index from fetal vessels: a cross-sectional study on 1556 healthy fetuses*. *J Perinat Med*, 18(3), 165-72.
6. **Ashur-Fabian, O., Yerushalmi, G. M., Mazaki-Tovi, S., Steinberg, D. M., Goldshtein, I., Yackobovitch-Gavan, M., Schiff, E., Amariglio, N., Rechavi, G.** (2012) *Cell free expression of hif1 and p21 in maternal peripheral blood as a marker for preeclampsia and fetal growth restriction*. *PLoS One*. 7(5), e37273.
7. **Askelund, KJ., & Chamley, L.W.** (2011). *Trophoblast deportation part I: review of the evidence demonstrating trophoblast shedding and deportation during human pregnancy*. *Placenta*; 32(10), 716-23.
8. **Austgulen, R., Isaksen, C.V., Chedwick, L., & Romundstad, P.** (2004). *Preeclampsia associated with increased syncytial apoptosis when the infant is small for gestational age*. *J Reprod Immunol*, 61, 39-50.
9. **Barrera, J., Turmo, E., & Sainz, JA.** (2014). *Hemodinamia placentaria y fetal. El doppler en Obstetricia* (pp.21-21). Madrid, España: Bartha, JL & Sainz, JA.
10. **Baumann, M. U., Bersinger, N. A., & Surbek, D. V.** (2007). *Serum markers for predicting preeclampsia*. *Molecular aspects of medicine*, 28(2), 227-244.
11. **Bellamy, L., Casas, J.P., Hingorani, A.D., & Williams, D.J.** (2007). *Preeclampsia and risk of Cardiovascular disease and cancer in later life: systematic review and meta-analysis*. *BMJ*; Nov 10, 335(7627), 974.

12. **Benirschke, K., Kaufmann, P & Baergen, R.** (2006). *Pathology of the human placenta*. New York: Springer - Verlag.
13. **Blankenship, T. N., Enders, A. C., & King, B. F.** (1993). *Trophoblastic invasion and modification of uterine veins during placental development in macaques*. *Cell and tissue research*, 274(1), 135-144.
14. **Bonetti, L. R., Ferrari, P., Trani, N., Maccio, L., Laura, S., Giuliana, S., & Rivasi, F.** (2011). *The role of fetal autopsy and placental examination in the causes of fetal death: a retrospective study of 132 cases of stillbirths*. *Archives of gynecology and obstetrics*, 283(2), 231-241.
15. **Burton, G. J., & Jauniaux, E.** (2004). *Placental oxidative stress: from miscarriage to preeclampsia*. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 11(6), 342-352.
16. **Burton, G. J., Woods, A. W., Jauniaux, E., & Kingdom, J.C.** (2009). *Rheological and physiological consequences of conversion of maternal spiral arteries for uteroplacental blood flow during human pregnancy*. *Placenta*, 30, 473-432.
17. **Caniggia, I., Grisarú-Gravnosky, S., Kuliszewsky, M., Post, M., & Lye, S. J.** (1999). *Inhibition of TGF-3 restores the invasive capability of extravillous trophoblasts in preeclamptic pregnancies*. *The Journal of clinical investigation*, 103(12), 1641-1650.
18. **Cartwright, J. E., Kenny, L. C., Dash, P. R., Crocker, I. P., Aplin, J. D., Baker, P. N., & Whitley, G. S. J.** (2002). *Trophoblast invasion of spiral arteries: a novel in vitro model*. *Placenta*, 23(2), 232-235.
19. **Cnossen, J. S., Morris, R. K., ter Riet, G., Mol, B. W., van der Post, J. A., Coomarasamy, A., & Khan, K. S.** (2008). *Use of uterine artery Doppler ultrasonography to predict pre-eclampsia and intrauterine growth restriction: a systematic review and bivariable meta-analysis*. *Canadian Medical Association Journal*, 178(6), 701-711.
20. **Cooper, K., Haffajee, Z.** (1997). *Bcl-2 and p53 protein expression in follicular lymphoma*. *J Pathol* 182 (3), 307-310.
21. **Cortés, H., & Muñoz, H.** (2007). *Utilidad clínica del estudio anatomopatológico de la placenta en el Hospital Universitario San Vicente de Paúl*. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 58(1), 60-65.
22. **Cox, P., & Evans, C.** (2011). *Tissue pathway for histopathological examination of the placenta*. UK: The Royal College of Pathologists.

23. **Charnock-Jones, D. S, Burton, G. J.** (2000). *Placental vascular morphogenesis*. Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 14, 953.
24. **DiFederico, E., Genbacev, O., & Fisher, S. J.** (1999). *Preeclampsia is associated with widespread apoptosis of placental cytotrophoblasts within the uterine wall*. The American journal of pathology, 155(1), 293-301.
25. **Dokras, A., Gardner, L. M., Seftor, E. A., & Hendrix, M. J.** (2001). *Regulation of human cytotrophoblast morphogenesis by hepatocyte growth factor/scatter factor*. Biology of reproduction, 65(4), 1278-1288.
26. **Ebbing, C., Rasmussen, S., & Kiserud, T.** (2007). *Middle cerebral artery blood flow velocities and pulsatility index and the cerebroplacental pulsatility ratio: longitudinal reference ranges and terms for serial measurements*. Ultrasound Obstet Gynecol, 30, pp:287-96.
27. **Enders, A. C., & King, B. F.** (1991). *Early stages of trophoblastic invasion of the maternal vascular system during implantation in the macaque and baboon*. American Journal of Anatomy, 192(4), 329-346.
28. **Figueras, F., Eixarch, E., Gratacos, E., & Gardosi, J.** (2008). *Predictiveness of antenatal umbilical artery Doppler for adverse pregnancy outcome in small for gestational age babies according to customised birthweight centiles: population based study*. BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology, 115(5), 590-594.
29. **Finn Geneser.** (2000). *Capítulo 22 Órganos de la reproducción*. Histología. (pp.663-672). Copenhagen: Médica Panamericana.
30. **Fridman, J. S., & Lowe, S. W.** (2003). *Control of apoptosis by p53*. Oncogene, 22(56), 9030-9040.
31. **Fukunaga, M.** (2004). *Immunohistochemical characterization of p57Kip2 expression in tetraploid hydropic placentas*. Archives of pathology & laboratory medicine, 128(8), 897-900.
32. **Fulop, V., Mok, S. C., Genest, D. R., Gati, I., Doszpod, J., & Berkowitz, R. S.** (1998). *p53, p21, Rb and mdm2 oncoproteins. Expression in normal placenta, partial and complete mole, and choriocarcinoma*. The Journal of reproductive medicine, 43(2), 119-127.
33. **Fulop, V., Mok, S. C., Genest, D. R., Szigetvari, I., Cseh, I., & Berkowitz, R. S.** (1998). *c-myc, c-erbB-2, c-fms and bcl-2 oncoproteins. Expression in normal placenta, partial and complete mole, and choriocarcinoma*. The Journal of reproductive medicine, 43(2), 101-110.

34. **Fulop, V., Mok, S. C., Genest, D. R., Szigetvari, I., Cseh, I., & Berkowitz, R. S.** (1998). *c-myc, c-erbB-2, c-fms and bcl-2 oncoproteins. Expression in normal placenta, partial and complete mole, and choriocarcinoma.* The Journal of reproductive medicine, 43(2), 101-110.
35. **Funk, J. O., Waga, S., Harry, J. B., Espling, E., Stillman, B., & Galloway, D. A.** (1997). *Inhibition of CDK activity and PCNA-dependent DNA replication by p21 is blocked by interaction with the HPV-16 E7 oncoprotein.* Genes & development, 11(16), 2090-2100.
36. **Gartel, A. L., & Radhakrishnan, S. K.** (2005). *Lost in transcription: p21 repression, mechanisms, and consequences.* Cancer research, 65(10), 3980-3985.
37. **Gartel, A. L., & Tyner, A. L.** (2002) *The role of the cyclin-dependent kinase inhibitor p21 in apoptosis.* Mol Cancer Ther. 2002 Jun; 1(8), 639-49.
38. **Goldman-Wohl, D., & Yagel, S.** (2009). *Preeclampsia - a placenta developmental biology perspective.* Journal of reproductive immunology, 82(2), 96-99.
39. **Gómez, O., Fernández, S., Bennasar, M., Martínez, J. M., Puerto, B., & Gratacós, E.** (2008). *Reference ranges for uterine artery mean pulsatility index at 11-41 weeks of gestation.* Ultrasound Obstet Gynecol, Aug, 32(2), 128-132.
40. **Gregory, C. D., & Devitt, A.** (2004). *The macrophage and the apoptotic cell: an innate immune interaction viewed simplistically?* Immunology, 113(1), 1-14.
41. **Gutiérrez, G. R., Maldonado, H. A. V., Sashida, P. M., López, A. H., Salim, P. C., & de León, A. L. P. P.** (2008). *Alteraciones histopatológicas placentarias en la hipertensión gestacional.* Ginecol Obstet Mex, 76(11), 673-8.
42. **Hargitai, B., Marton, T., & Cox, P. M.** (2004). *Best practice No 178 Examination of the human placenta.* Journal of clinical pathology, 57(8), 785-792.
43. **Heazell, A. E. P., L. M. Brown, et al** (2005). *"Expression of oncoproteins p53 and Mdm2 within trophoblast of normal and pre-eclamptic pregnancies."* J Soc Gynecol Investig 12, 362A.
44. **Heazell, A. E. P., Lacey, H. A., Jones, C. J. P., Huppertz, B., Baker, P. N., & Crocker, I. P.** (2008). *Effects of oxygen on cell turnover and expression of regulators of apoptosis in human placental trophoblast.* Placenta, 29(2), 175-186.

45. **Heazell, A. E., Sharp, A. N., Baker, P. N., & Crocker, I. P.** (2011). *Intra-uterine growth restriction is associated with increased apoptosis and altered expression of proteins in the p53 pathway in villous trophoblast*. *Apoptosis*, 16(2), 135-144.
46. **Herraiz, M. A., Martell-Claros, N., & Bartha, JI.** (2015). *Preeclampsia temprana y tardía. Concepto, fisiopatología y epidemiología en nuestro medio. En actualización en predicción y diagnóstico de la preeclampsia*. Monográfico sobre preeclampsia. Enero 2015, 9.
47. **Hung, T. H., & Burton, G.J.** (2006) *Hypoxia and reoxygenation: a possible mechanism for placental oxidative stress in preeclampsia*. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 45(3):189-200.
48. **Ishihara, N., Matsuo, H., Murakoshi, H., Laoag-Fernandez, J. B., Samoto, T., & Maruo, T.** (2002). *Increased apoptosis in the syncytiotrophoblast in human term placentas complicated by either preeclampsia or intrauterine growth retardation*. *American journal of obstetrics and gynecology*, 186(1), 158-166.
49. **Jänicke, R. U., Sohn, D., Essmann, F., & Schulze-Osthoff, K** (2007). *The multiple battles fought by anti-apoptotic p21*. *Cell Cycle*. 2007 Feb 15, 6(4):407-13.
50. **Jerzak, M., & Bischof, P.** (2002). *Apoptosis in the first trimester human placenta: the role in maintaining immune privilege at the maternal-foetal interface and in the trophoblast remodelling*. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 100(2), 138-142.
51. **Jeschke, U., Schiessl, B., Mylonas, I., Kunze, S., Kuhn, C., Schulze, S., Friese, K., & Mayr, D** (2006). *Expression of the proliferation marker Ki-67 and of p53 tumor protein in trophoblastic tissue of preeclamptic, HELLP, and intrauterine growth-restricted pregnancies*. *Int J Gynecol Pathol*. 25(4), 354-60.
52. **Kessler, J., Rasmussen, S., Hanson, M., & Kiserud T.** (2006). *Longitudinal reference ranges for ductus venosus flow velocities and waveform indices*. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 28(7), 890-8.
53. **Khong, T. Y. (1991)**. *Acute atherosclerosis in pregnancies complicated by hypertension, small-for-gestational-age infants, and diabetes mellitus*. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 115(7), 722-725.
54. **Kim, Y. M., Chaemsaitong, P., Romero, R., Shaman, M., Kim, CJ., & Kim, JS.** (2015). *The frequency of acute atherosclerosis in normal pregnancy and preterm labor, preeclampsia, small-for-gestational age, fetal death and midtrimester spontaneous abortion*. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 8, 1-9.

55. **Kingdom, J. C. P., & Kaufmann, P.** (1997). *Oxygen and placental villous development: origins of fetal hypoxia*. *Placenta*, 18(8), 613-621.
56. **Knerr, I., Beinder, E., & Rascher, W.** (2002). *Syncytin, a novel human endogenous retroviral gene in human placenta: evidence for its dysregulation in preeclampsia and HELLP syndrome*. *American journal of obstetrics and gynecology*, 186(2), 210-213.
57. **Korgun, E. T., Celik-Ozenci, C., Acar, N., Cayli, S., Desoye, G., & Demir R** (2006) *Location of cell cycle regulators cyclin B1, cyclin A, PCNA, Ki67 and cell cycle inhibitors p21, p27 and p57 in human first trimester placenta and deciduas*. *Histochem Cell Biol*. Jun; 125(6), 615-24.
58. **Kovo, M., Schreiber, L., Ben-Haroush, A., Wand, S., Golan, A., & Bar J.** (2010) *Placental vascular lesion differences in pregnancy-induced hypertension and normotensive fetal growth restriction*. *Am J Obstet Gynecol*, 202, 561.
59. **Kraus, F. T., Redline, R. W., Gersell, D. J, et al:** *American Registry of Pathology: Placental Pathology*. 2005 Armed Forces Institute of Pathology Washington, DC.
60. **Kumar, V., Abbas, A., Fausto, N., & Aster, J.** (2010). *Robbins and Cotran. Patología estructural y funcional*. Illinois: Saunders.
61. **Langston, C., Kaplan, C., & Macpherson, T.** (1997) *Practice guideline for examination of the placenta: developed by the placental pathology practice guideline development task force of the College of American Pathologists*. *Arch Pathol Lab Med*, 121, 449-76.
62. **Lee, X., Keith, J. C., Stumm, N., Moutsatsos, I., McCoy, J. M., Crum, C. P., & Van Assche, F. A.** (2001). *Downregulation of placental syncytin expression and abnormal protein localization in pre-eclampsia*. *Placenta*, 22(10), 808-812.
63. **Leung, D. N., Smith, S. C., To, K. F., Sahota, D. S., & Baker, P. N.** (2001). *Increased placental apoptosis in pregnancies complicated by preeclampsia*. *American journal of obstetrics and gynecology*, 184(6), 1249-1250.
64. **Levy, R., Smith, S. D., Yusuf, K., Huettner, P. C., Kraus, F. T., Sadovsky, Y., & Nelson, D. M.** (2002). *Trophoblast apoptosis from pregnancies complicated by fetal growth restriction is associated with enhanced p53 expression*. *American journal of obstetrics and gynecology*, 186(5), 1056-1061.

65. **Lewis, S., H. Post M., & Benirscke, K.** Fourth edition 2012 Mills Stacey E. Chapter 43 Placenta.
66. **Madazli, R., Somunkiran, A., Calay, S., & Aksu, F.** (2003). *Histomorphology of the Placenta and the Placental Bed of Growth Restricted Fetuses and Correlation with the Doppler Velocimetries of the Uterine and Umbilical Arteries.* *Placenta* 24, 510-516.
67. **Mao, L., Zhou, Q., Zhou, S., Wilbur, R. R., & Li, X.** (2013). *Roles of apolipoprotein E (ApoE) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) in inflammation and apoptosis in preeclampsia pathogenesis and progression.* *PloS one*, 8(3), e58168.
68. **Marone, M., Bonanno, G., Rutella, S., et al** (2003). *Survival and cell cycle control in early hematopoiesis: role of bcl-2, and the cyclin dependent kinase inhibitors p27 and p21.*
69. **Martínez, N., & Oresanz, I.** (2014). *Doppler y hemodinamia materno-fetal.* En *El doppler en Obstetricia* (pp.37-44). Madrid, España.: Bartha, JL & Sainz, JA.
70. **Martínez, C., & López, F.** (2014). *Doppler y hemodinamia materno-fetal.* En *El doppler en Obstetricia* (pp.37-44). Madrid, España.: Bartha, JL & Sainz, JA.
71. **Marzusch, K., Ruck, P., Horny, H. P., Dietl, J., & Kaiserling, E.** (1995). *Expression of the p53 tumour suppressor gene in human placenta: an immunohistochemical study.* *Placenta*, 16(1), 101-104.
72. **Mayhew, T. M** (2014). *Turnover of human villous trophoblast in normal pregnancy: what do we know and what do we need to know?* *Placenta.* Apr, 35(4):229-40.
73. **Medrano, R. J., Yahuaca, M. P., Presno, B. M., & Alvarado, A. J.** (2008). *Oxidative stress level and placental histological changes during preeclampsia.* *Ginecología y obstetricia de Mexico*, 76(6), 319-326.
74. **Meekins, J. W., Luckas, M. J. M., Pijnenborg, R., & McFadyen, I. R.** (1997). *Histological study of decidual spiral arteries and the presence of maternal erythrocytes in the intervillous space during the first trimester of normal human pregnancy.* *Placenta*, 18(5), 459-464.
75. **Mendilcioglu, I., Karaveli, S., Erdogan, G., Simsek, M., Taskin, O., & Ozekinci M.** (2011) *Apoptosis and expression of Bcl-2, Bax, p53, caspase-3, and Fas, Fas ligand in placentas complicated by preeclampsia.* *Clin Exp Obstet Gynecol*, 38(1):38-42.
76. **Mifsud, W., & Sebire NJ.** (2014). *Placental pathology in early-onset and late-onset fetal growth restriction.* *Fetal Diagn Ther*, 36, 117-28.

77. **Mills, S. E.** (2012). *Histology for pathologists*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. pp.1149-1176.
78. **Moldenhauer, J. S., Stanek, J., Warshak, C., Khoury, J., & Sibai, B.** (2003). *The frequency and severity of placental findings in women with preeclampsia are gestational age dependent*. American journal of obstetrics and gynecology, 189(4), 1173-1177.
79. **Myatt, L.** *Role of placenta in preeclampsia*. Endocrine 2002; 19:103.
80. **Nelson, DB., Ziadie, MS., McIntire, DD., Rogers, BB., & Leveno KJ.** (2014). *Placental pathology suggesting that preeclampsia is more than one disease*. Am J Obstet Gynecol, 210:66.
81. **Nieder, C., Petersen, S., Petersen, C., & Thames HD** (2001). *The challenge of p53 as prognostic and predictive factor in Hodgkin's or non Hodgkin's lymphoma*. Ann Hematol 80 (1), 2-8.
82. **Ogge, G., Chaiworapongsa, T., Romero, R., Hussein, Y., Kusanovic, Jp., Yeo, L., Kim, CJ., & Hassan, SS.** (2011). *Placental lesions associated with maternal underperfusion are more frequent in early-onset than in late-onset preeclampsia*. J Perinat Med, 39(6), 641-52.
83. **Ovalle, S., Kakarieka, W., Correa, P., Vial, P., Teresa, M., & Aspillaga, M.** (2005). *Estudio anatómico-clínico de las causas de muerte fetal*. Revista chilena de obstetricia y ginecología, 70(5), 303-312.
84. **Piccolo, M. T., & Crispi, S.** (2012). *The dual role played by p21 may influence the apoptotic or anti-apoptotic fate in cancer*. Journal of Cancer Research Updates, 1(2), 189-202.
85. **Pijnenborg, R., & Hanssens, M. C.** (2010). *What is defective: decidua, trophoblast or both?* En Placental bed disorders. Basic science and its translation to obstetrics. New York: Pijnenborg, R., Brosens, I., & Romero, R.
86. **Pijnenborg, R., Dixon, G., Robertson, W. B., & Brosens, I.** (1980). *Trophoblastic invasion of human decidua from 8 to 18 weeks of pregnancy*. Placenta, 1(1), 3-19.
87. **Plasencia, W., Nicolaidis, K.** (2015) *En actualización en predicción y diagnóstico de la preclampsia*. Monográfico sobre preclampsia, 13-15
88. **Poon, L. C., Kametas, N. A., Chelemen, T., Leal, A., & Nicolaidis, KH.** (2010). *Maternal risk factors for hypertensive disorders in pregnancy: a multivariate approach*. J Hum Hypertens, 24, 104-110.
89. **Poon, L. C., Kametas, N. A., Maiz, N., Akolekar, R., & Nicolaidis, K. H.** (2009). *First-trimester prediction of hypertensive disorders in pregnancy*. Hypertension, 53(5), 812-818.

90. **Poon, L. Y., Syngelaki, A., Akolekar, R., Lai, J., & Nicolaides, K.H.** (2013). *Combined screening for preeclampsia and small for gestational age at 11-13 weeks*. *Fetal Diagns Therapy*, 33, 16-27.
91. **Protocolo de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO)** "Transtornos hipertensivos del embarazo" (2006).
92. **Ramael, M., Lemmens, G., Eerdekens, C., Buysse, C., Deblier, I., & Jacobs W** (1992) *Immunoreactivity for p53 protein in malignant mesothelioma and non neoplastic mesothelium*. *J Pathol* 168 (4), 371-375.
93. **Redman, C. W., Sacks, GP., & Sargent, IL.** (1999). *Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy*. *Am J Obstet Gynecol*, 180, 499-506.
94. **Roberts, D. J.** (2008). *Placental pathology, a survival guide*. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 132(4), 641-651.651.
95. **Rodriguez, R., & Meuth, M.** (2006). *Chk1 and p21 cooperate to prevent apoptosis during DNA replication fork stress*. *Molecular biology of the cell*, 17(1), 402-412.
96. **Rosai, J.** (2011). *Special techniques in surgical pathology*. En Rosai and Ackerman's *Surgical Pathology* (pp.37-47). Philadelphia: Mosby.
97. **Sadler, T. W.** (2012). *Third month to birth: The fetus and placenta*. En Langman's *Medical Embriology* (pp.96-115.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
98. **Saikumar, P., Dong, Z., Mikhailov, V., Denton, M., Weinberg, J. M., & Venkatachalam, M. A.** (1999). *Apoptosis: definition, mechanisms, and relevance to disease*. *The American journal of medicine*, 107(5), 489-506.
99. **Saito, S., Nakashima, A.** (2014). *A review of the mechanism for poor placentation in early-onset preeclampsia: the role of autophagy in trophoblast invasion and vascular remodeling*. *J Reprod Immunol*, 101-102, 80-8.
100. **Saito, S., Nakashima, A.** (2014). *A review of the mechanism for poor placentation in early-onset preeclampsia: the role of autophagy in trophoblast invasion and vascular remodeling*. *J Reprod Immunol*, 101-102, 80-88.
101. **Salafia, C. M., Minior, V. K., Pezzullo, J. C., Popek, E. J., Rosenkrantz, T. S., & Vintzileos, A. M.** (1995). *Intrauterine growth restriction in infants of less than thirty-two weeks' gestation: associated pla-*

- cental pathologic features. American journal of obstetrics and gynecology*, 173(4), 1049-1057.
102. **Salafia, C. M., Pezzullo, J. C., Ghidini, A., Lopez-Zeno, J. A., & Whittington, S. S.** (1998). *Clinical correlations of patterns of placental pathology in preterm pre-eclampsia. Placenta*, 19(1), 67-72.
103. **Saleh, R. A., & Dkhil, M. A. M.** (2008). *Structural changes of placenta in preeclamptic patients: light and electron microscopic study. Turkish Journal of Medical Sciences*, 38(3), 219-225.
104. **Santos, A. M., Sousa, H., Portela, C., Pereira, D., Pinto, D., Catarino, R., & Medeiros, R.** (2006). *TP53 and P21 polymorphisms: response to cisplatin/paclitaxel-based chemotherapy in ovarian cancer. Biochemical and biophysical research communications*, 340(1), 256-262.
105. **Sharp, A. N., Heazell, A. E., Baczyk, D., Dunk, C. E., Lacey, H. A., Jones, C. J., & Crocker, I. P.** (2014). *Preeclampsia is associated with alterations in the p53-pathway in villous trophoblast. PloS one*, 9(1), e87621.
106. **Silvera Arenas, L. A., Manjarrez, C., Peñuela, M. E., Villalba, D. H.** *Caracterización anatomo-histopatológica de la placenta y correlación clínica en la enfermedad hipertensiva inducida por el embarazo en pacientes de Barranquilla (Colombia). Salud Uninorte. Barranquilla (Col.)* 2005; 21, 41-54.
107. **Smith, S. C., Baker, P. N., & Symonds, E. M.** (1997). *Increased placental apoptosis in intrauterine growth restriction. American journal of obstetrics and gynecology*, 177(6), 1395-1401.
108. **Smith, S. C., Leung, T. N., To, K. F., & Baker, P. N.** (2000). *Apoptosis is a rare event in first-trimester placental tissue. American journal of obstetrics and gynecology*, 183(3), 697-699.
109. **Smith, S., Baker, P. N., & Symonds, E. M.** (1997). *Placental apoptosis in normal human pregnancy. American journal of obstetrics and gynecology*, 177(1), 57-65.
110. **Smulian, J., Shen-Schwarz, S., Scorza, W., Kinzler, W., & Vintzileos, A.** (2004). *A clinicohistopathologic comparison between HELLP syndrome and severe preeclampsia. The Journal of Maternal-fetal & Neonatal Medicine*, 16(5), 287-293.
111. **Staff, A. C., Dechend, R., & Pijnenborg, R.** (2010). *Learning from the placenta: acute atherosclerosis and vascular remodeling in preeclampsia-novel aspects for atherosclerosis and future cardiovascular health. Hypertension*, 56, 1026-1034.
112. **Stegers, E. A., von Dadelszen, P., Duvetkot, J. J., & Pijnenborg, R.** (2010). *Pre-eclampsia. The*

Lancet, 376(9741), 631-644.

113. **Tellefsen, C. H., & Vogt, C.** (2010). *How important is placental examination in cases of perinatal deaths?* Pediatric and Developmental Pathology, 14(2), 99-104.

114. **Unek, G., Ozmen, A., Mendilcioglu, I., Simsek, M., & Korgun ET** (2014). *The expression of cell cycle related proteins PCNA, Ki67, p27 and p57 in normal and preeclamptic human placentas.* Tissue Cell. 2014 Jun, 46(3), 198-205.

115. **Van der Merwe, J. L., Hall, D. R., Wright, C., Schubert, P., & Grove D.** (2010). *Are early and late preeclampsia distinct subclasses of the disease--what does the placenta reveal?* Hypertens Pregnancy, 29, 457-67.

116. **Vinay, K., Abbas, A., Fausto, N & Aster, J.** (2014). *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease.* Philadelphia: Elsevier.

117. **Vinnars, MT., Nasiel, I J., Ghazi, S., Westgren, M., & Papadogiannakis, N** (2011). *The severity of clinical manifestations in preeclampsia correlates with the amount of placental infarction.* Acta Obstet Gynecol Scand, 90 (1), 19-25.

118. **Vinnars, M. T., Wijnaendts, L. C., Westgren, M., Bolte, A. C., Papadogiannakis, N., & Nasiell, J.** (2008). *Severe preeclampsia with and without HELLP differ with regard to placental pathology.* Hypertension, 51(5), 1295-1299.

119. **Vogelstein, B., Lane, D., Levine, A.** (2000). *Surfing the p53 network.* Nature. Nov 16;408(6810), 307-10.

120. **Vojtesek, B., Bartek, J., Midgley, CA, & Lane DP.** (1992). *An immunohistochemical analysis of the human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53.* J Immunol Methods 151(1-2), 237-244.

121. **Von Dadelszen, P., Magee, L. A., & Roberts, J. M.** (2003). *Subclassification of preeclampsia.* Hypertension in pregnancy, 22(2), 143-148.

122. **Wright, D., Akolekar, R., Syngelaki, A., Poon, L. C., & Nicolaides, kh.** (2012). *A competing risks model in early screening for preeclampsia.* Fetal Diagn Ther, 32, 171-178.

123. **Wu, Q., Kirschmeier, P., Hockenberry, T., Yang, T. Y., Brassard, D. L., Wang, L., & Mirza, A.** (2002). *Transcriptional regulation during p21 WAF1/CIP1-induced apoptosis in human ovarian cancer cells.* Jour-

nal of Biological Chemistry, 277(39).

124. **Xia, M., Knezevic, D., & Vassilev, L. T.** (2011). *p21 does not protect cancer cells from apoptosis induced by nongenotoxic p53 activation*. *Oncogene*, 30(3), 346-355.

125. **Xiong, Y., Hannon, G. J., Zhang, H., Casso, D., Kobayashi, R., & Beach, D.** (1993). *p21 is a universal inhibitor of cyclin kinases*. *Nature*.366, 701-704.

126. **Yamaguchi, T., Matsuda, K., Sagiya, Y., Iwadate, M., Fujino, M. A., Nakamura, Y., & Arakawa, H.** (2001). *p53R2-dependent pathway for DNA synthesis in a p53-regulated cell cycle checkpoint*. *Cancer research*, 61(22).

127. **Zhang, P., Schmidt, M., & Cook, L.** (2006). *Maternal vasculopathy and histologic diagnosis of preeclampsia: poor correlation of histologic changes and clinical manifestation*. *American journal of obstetrics and gynecology*, 194(4), 1050-1056.

128. **Zhang, Z., Wang, H., Li, M., Rayburn, E., Agrawal, S., & Zhang, R.** (2005). *Novel MDM2 p53 Independent Functions Identified through RNA Silencing Technologies*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1058 (1), 205-214.

129. **Zhou, Y., Fisher, S. J., Janatpour, M., Genbacev, O., Dejana, E., Wheelock, M., & Damsky, C. H.** (1997). *Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate. A strategy for successful endovascular invasion?* *The Journal of clinical investigation*, 99(9), 2139.