

PLACENTA HUMANA CHAGASICA: ALTERACION ESTRUCTURAL Y CITOQUIMICA DE VASOS SANGUINEOS.

Ricardo E. Fretes, Sofía Parisi de Fabro.

Ila. Cátedra de Histología, Embriología y Genética e Instituto de Biología Celular.
Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.
Agencia Postal 4, Ciudad Universitaria, (5.000) Córdoba, Argentina.

RESUMEN

Diversos autores han demostrado que los vasos sanguíneos coronarios pueden tener alguna participación en la patogenia de las alteraciones cardíacas en la enfermedad de Chagas. El objetivo del presente trabajo fue detectar alteraciones estructurales y citoquímicas en vasos sanguíneos de placentas humanas a término mediante microscopía óptica y electrónica, considerando la posibilidad de su participación en la patogenia del pasaje transplacentario del agente causal del Chagas. En dos de seis placentas chagásicas provenientes de embarazadas a término con serologías positivas para enfermedad de Chagas, se halló estrechamiento u oclusión de vasos fetales de las vellosidades coriales con aspecto hialinizado de sus paredes mediante microscopía óptica y actividad de fosfatasa ácida aumentada en el endotelio vascular mediante ultracitoquímica. El estrechamiento de la luz vascular mediante ultracitoquímica. El estrechamiento de la luz vascular podría deberse a la participación del músculo liso y del endotelio.

Palabra clave: Chagas congénito - placenta humana - vasos sanguíneos coriales.

INTRODUCCION

Trypanosoma cruzi, el agente causal de la enfermedad de Chagas, es un parásito intracelular obligado (14). El trypomastigote, la forma infectiva del parásito, entra en células huéspedes susceptibles mediante su adhesión temprana a la membrana celular de la célula a ser invadida; luego se interioriza a través de los

lisosomas de la célula huésped y queda libre en el citosol de la célula invadida mediante la disrupción de la membrana vacuolar, lo que le permite su replicación (13). Tanto en la forma aguda como en la crónica del Chagas se han descrito modificaciones en el endotelio de los vasos sanguíneos, que pudieran representar las bases por las cuales se producen las alteraciones orgánicas en la enfermedad de Chagas (23).

El *T. cruzi* atraviesa la barrera placentaria e infecta al feto produciendo la enfermedad congénita del Chagas (5, 6). Se han descrito alteraciones macroscópicas y microscópicas de las placentas en esos casos de transmisión, pero no así alteraciones vasculares en placentas a término provenientes de embarazadas con Chagas crónico latente (5, 6, 15, 17). Dada la posible importancia que pudieran tener las alteraciones de los vasos sanguíneos en la patogenia del pasaje transplacentario del agente causal del Chagas, el objetivo del presente trabajo fue detectar posibles alteraciones estructurales en vasos sanguíneos de placentas humanas a término mediante microscopía óptica y electrónica.

MATERIAL Y METODOS

Se emplearon 11 placentas de la Maternidad Nacional de la Universidad Nacional de Córdoba y de la Maternidad Provincial. Cinco provenían de embarazadas normales que no presentaban alteraciones clínicas ni serológicas compatibles con patologías y que fueron utilizadas como controles. Seis placentas provenían de embarazadas con test de inmunofluorescencia y Reacción de Machado-Guerreiro positivas para enfermedad de Chagas.

Los órganos se recolectaron en solución de Hanks (pH 7,35) y se trasladaron en frío hasta su procesamiento, que no superó la hora posterior al alumbramiento.

Las placentas se perfundieron con solución salina de cloruro de sodio al 0,9% con una presión de 80 mm de Hg (19). En todos los casos las muestras se obtuvieron de la parte central de los cotiledones y se separaron muestras de la placa amniótica, vellosa y materna, las que se destinaron para microscopía óptica y electrónica.

Las muestras de tejido para microscopía óptica se fijaron en solución de Bouin y se procesaron en forma rutinaria (20). La coloración de los cortes histológicos se realizó con hematoxilina-eosina. Bloques de tejido de 0,5 cm³ se procesaron para su estudio ultraestructural (10). Se seleccionaron bloques de tejido de 2 a 3 mm³ para la determinación ultracitoquímica (20) de fosfata ácida (EC 3.1.3.2) empleando el β -glicerofosfato como sustrato (11). Controles de la técnica se obtuvieron mediante la incubación sin sustrato en el medio. En todos los casos se procesaron de acuerdo a Fretes y Fabro (11). Cortes de 1 mm de espesor se colorearon con azul de toluidina y se observaron mediante microscopía óptica y cortes de 80 nm de espesor se montaron en grillas de cobre y se contrastaron con acetato de uranilo y alternativamente con y sin citrato de plomo. Se visualizaron en un microscopio electrónico Siemens E 101.

RESULTADOS

Las placentas controles mantuvieron sus características de normalidad con microscopía óptica (Fig. 1) y electrónica.

Dos placentas chagásicas presentaron un estroma vellositario edematizado con separación de sus constituyentes y aspecto pálido de sus estructuras (Fig. 1). La mayoría de los vasos sanguíneos fetales de las vellosidades coriales de esas placentas mostraron un aspecto hialinizado en su pared, el que se asoció a una luz vascular estrecha u obliterada, probablemente causada por proliferación del músculo liso y participación endotelial, tal como puede observarse en la Figura 1.

La actividad citoquímica de fosfata ácida, tal como se la observó con el microscopio electrónico, se presentó aumentada en el endotelio vascular de las placentas chagásicas con respecto a la de los controles (Fig. 2 a y b). La marcación se localizó principalmente en los lisosomas y vesículas endocíticas de la célula endotelial.

DISCUSION

La transmisión congénita de la enfermedad de Chagas representa un problema social y un reservorio del parásito (1) y su incidencia es de 0,56% a 9,5% (1, 2, 21), dependiendo de si es zona endémica o no, de la migración de la población, del estado socio-cultural y otros factores. La mayoría de los casos publicados corresponden a madres con una forma latente de la enfermedad.

Se han comprobado lesiones histopatológicas en placentas humanas y de animales de experimentación y en los fetos con infección congénita (8, 15, 17). En el presente trabajo se describen alteraciones de vasos fetales de las vellosidades coriales a nivel de microscopía óptica que coinciden con las publicadas por Tafuri et al. (22), en una placenta humana proveniente de un caso de aborto por Chagas. En nuestro caso, sin embargo, se trata de placentas a término provenientes de embarazadas con serologías positivas para la enfermedad. La toma de muestra de la parte central de los cotiledones en todos los casos ha evitado cometer errores en la interpretación de las estructuras microscópicas debido a variaciones morfológicas y funcionales entre las vellosidades coriales del centro de los cotiledones y los de la periferia (7). Las alteraciones vasculares que aquí se describen podrían estar relacionadas con alteraciones de vasos sanguíneos en estos órganos tanto en casos de Chagas agudo como crónico experimentales (9, 24). Se ha implicado a elevados niveles de interleucina-1 β y 6 y factor de necrosis tumoral como causantes de alteraciones en células endoteliales humanas (4, 12, 18). Además, Libby et al. (16) han descrito proliferación de células de músculo liso de vasos sanguíneos humanos, que podrían influir en la

estrechez u oclusión de la luz vascular hallada por nosotros en las placentas.

Moya et al. (17) no encontraron alteraciones en vellosidades coriónicas de 18 placentas humanas chagásicas. En nuestro caso, la demostración de las alteraciones vasculares descritas se produjo en 2 de las 6 placentas chagásicas estudiadas, que podrían haber causado hipo-perfusión tisular y modificaciones en el normal funcionamiento placentario. La alteración en la actividad ultracitoquímica de la fosfatasa ácida representaría modificaciones funcionales y/o morfológicas de la célula endotelial de los capilares fetales. Futuras investigaciones serán necesarias para dilucidar la importancia de estos hallazgos. En el modelo canino de la enfermedad de Chagas se ha encontrado vasculitis de la microvasculatura cardíaca (3). Se considera que el daño de la microcirculación coronaria conduce a cambios patológicos que participarían en la patogenia de las alteraciones cardíacas chagásicas (23).

ABSTRACT

Various authors have demonstrated that coronary blood vessels could have some participation in the pathogenesis of the cardiac alterations of Chagas' disease. The purpose of this work was to detect structural and cytochemical modifications of blood vessels in human chagasic placentas at term with optical and electron microscopy due their possible participation in the pathogenesis of the congenital transmission of the disease. In two of the six chagasic placentas at term from pregnant women with positive serology, there was diminution and occlusion of the lumen of the chorionic villi blood vessels, with hialine aspect of their walls. An increase of acid phosphatase activity in the endothelium was also observed with electron microscopy. The diminished blood vessel lumen could be due to smooth muscle and endothelium participation.

Key words: Congenital Chagas disease - human placenta - chorionic blood vessels

AGRADECIMIENTOS: A la Dra. L. Ambroggio por su asistencia técnica.

Este trabajo ha sido subsidiado por CONICOR (Consejo de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Provincia de Córdoba) y SECYT (UNC).

REFERENCIAS

1. Azogue E: Women and congenital Chagas disease in Santa Cruz, Bolivia: epidemiological and sociocultural aspects. *Soc Sci Med* 37(4):503-511, 1993.
2. Barousse A P, Eposto M O, Mandel S, Sousa Martinez F: Enfermedad de Chagas congénita en área no endémica. *Medicina (Bs. As.)* 38:611-615, 1978.
3. Barr S, Schmidt S P, Brown C C, Klei T R: Pathological feautres of dogs inoculated with North American *Trypanosoma cruzi* isolates. *Am J Vet Res* 52:2033-2039, 1991.
4. Bevilacqua M P, Pober J S, Majeau G R, Cotran R S, Giambone M A: Interleukin-1 acts on cultured human vascular endothelium to increase adhesion of polymorphonuclear leukocytes, monocytes and related leukocyte cell lines. *J Clin Invest* 76:2003-2011, 1985.
5. Bittencourt A L: Congenital Chagas disease. *Am J Dis Child* 130:97-103, 1976.
6. Bittencourt A L: Possible risk factors for vertical transmission of Chagas' disease. *Rev Inst Med trop São Paulo* 34:403-408, 1992.
7. Björk O, Persson B: Villous structure in different parts of the cotyledon in placentas of insulin-dependent diabetic women. A morphometric study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 63:37-43, 1984.
8. Cunio R W, Olmos J A, Mercu G T D, Blanca K, Marteau D E: Chagas Mazza congénito experimental. *Medicina* 40(supl. 1):50-55, 1980.
9. Ferrans V J, Milei J, Tomita Y, Storino R A: Basement membrane thickening in cardiac myocytes and capillaries in chronic Chagas' disease. *Am J Cardiol* 61:1137-1140, 1988.
10. Fretes R E, Fabro S P de: Aumento de células de Hofbauer en placentas humanas cocultivadas in vitro con *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Fac Cienc Méd Córdoba*, 52:7-12, 1994.
11. Fretes R E, Fabro S P de: Quantitative ultrastructural and ultracytochemical analysis of lysosomes in the trophoblasts of human placentas at term. *Rev Fac Cienc Méd Córdoba* 49:23-25, 1991.

12. Giambone MA: Interleukin-1 (IL-1) induces biosynthesis and cell surface expression of procoagulant activity in vascular endothelial cells. *J Exp Med* 160:618-623, 1984.
13. Hall B F: *Trypanosoma cruzi*: mechanism for entry into host cells. *Sem Cell Biol* 4:323-333, 1993.
14. Hall B F, Joiner K A: Developmentally-regulated virulence factors of *Trypanosoma cruzi* and their relationship to evasion of host defenses. *J Eur Microbiol* 40:207-213, 1993.
15. Hessel MIM de: Variaciones citológicas y citoquímicas de los tejidos placentarios de embarazadas chagásicas. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, 1982.
16. Libby P, Warner S J C, Friedman G B: Interleukin 1: a mitogen for human vascular smooth muscle cells that induces the release of growth-inhibitory prostanoids. *J Clin Invest* 81:487-498, 1988.
17. Moya PR, Villagra L, Risco J: Enfermedad de Chagas congénita: hallazgos anatomopatológicos en placenta y cordón umbilical. *Rev Fac Cienc Méd Córdoba* 37:21-27, 1979.
18. Nachman R L, Hajjar K A, Silverstein R L, Dinarello C A: Interleukin 1 induces endothelial cell synthesis of plasminogen activator inhibitor. *J Exp Med* 163:1595-1600, 1986.
19. Panigel M: Placental perfusion experiments. *Am J Obstet Gynecol* 84:1664-1683, 1962
20. Samar M E, Avila R E: "Técnicas histológicas". Ed. ATICA, Córdoba, 1991.
21. Szarfman A, Urman J, Otalara A, Larguía A, Yanovsky J F: Specific agglutinins and immunoglobulins levels in congenital Chagas infection. *Medicina (Bs As)* 35:245-250, 1975.
22. Tafuri W L, Rocha A, Lopes E R, Gomes J, Mineo J R: Placentite chagásica apresentação de um caso com estudo a microscopia óptica e eletrônica. *Rev Inst Med trop São Paulo* 26(3):152-159, 1984.
23. Tanowitz H B, Kirchoff L V, Simon D, Morris S A, Weiss L M: Chagas' disease. *Clin Microbiol Rev* 5 (4): 400-419, 1992.
24. Tanowitz H B, Burns E R, Sinha A K, Kahn N N, Morris S M, et al.: Enhanced platelet adherence and aggregation in Chagas' disease: a potential pathogenic mechanism for cardiomyopathy. *Am J Trop Med Hyg* 43:274-281, 1990.

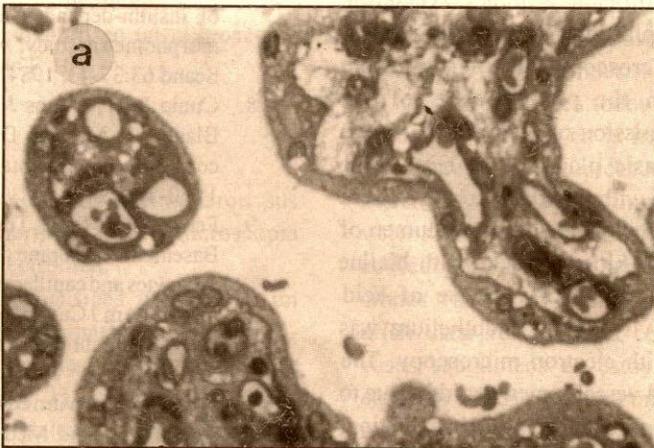


Figura 1 a: Placenta humana normal a término. Se observan vellosidades coriales de aspecto normal. Inclusión en Araldita. Coloración: Azul de Toluidina. 100 X.

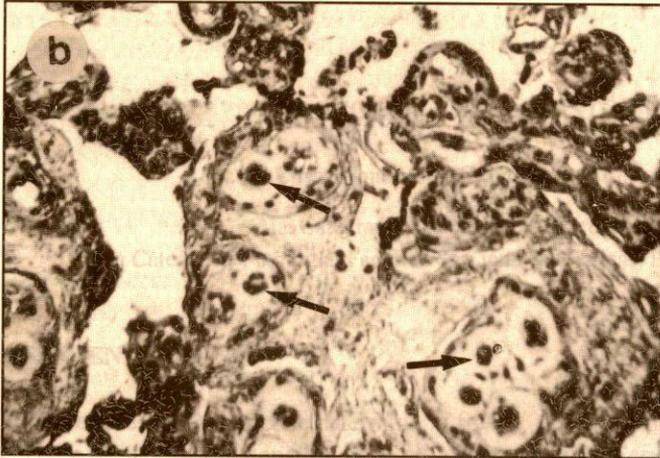
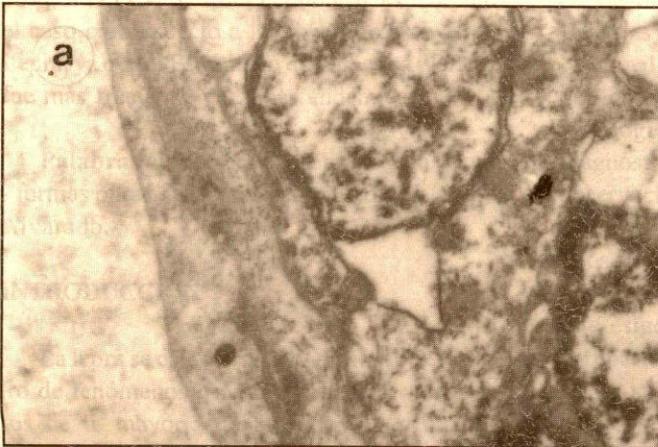
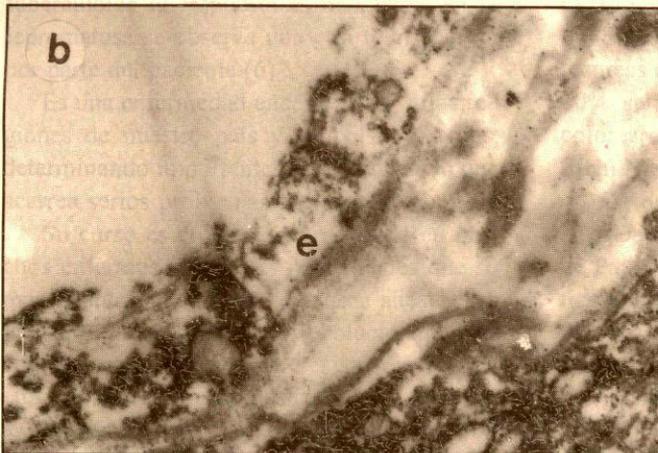


Figura 1 b: Placenta humana chagásica a término. Vasos sanguíneos con luces estrechas y ocluidas (flechas), edema e hialinización. Inclusión en Araldita. Coloración: Azul de toluidina. 300 X.

Figura 2. Actividad de fosfatasa ácida observada con microscopio electrónico en endotelios de vasos sanguíneos de vellosidades de placentas humanas a término.



a) Placenta normal. 6000 X.



b) Placenta chagásica. Mayor actividad de la enzima. (e=endotelio). 6500 X.