



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

HOSPITAL CIVIL DE CULIACÁN



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DOCENCIA EN CIENCIAS DE LA SALUD

Título

Frecuencia de Infección por Citomegalovirus asociado a Abortos

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN

“ANATOMÍA PATOLÓGICA”

PRESENTA:

Dra. Dinorah Maritza Bátiz Salazar

DIRECTOR DE TESIS

Dra. Cesilia Garnica Núñez

Dr. Edgar Dehesa López

Dr. Felipe de Jesús Peraza Garay

Culiacán Rosales, Sinaloa. Octubre 2017

DR. CARLOS FERNANDO CORONA SAPIENS

**DIRECTOR GENERAL DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DOCENCIA EN
CIENCIAS DE LA SALUD**

DR. EDGAR DEHESA LÓPEZ

SUBDIRECTOR DE INVESTIGACIÓN

DRA. ERIKA MARÍA CELIS AGUILAR

SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA

DRA. CESILIA GARNICA NÚÑEZ

DIRECTOR DE TESIS

**ANATOMOPATÓLOGA Y CITOPATÓLOGA ADSCRITA AL SERVICIO DE
ANATOMÍA PATOLÓGICA DE CIDOCS, HOSPITAL CIVIL DE CULIACÁN**

DR. EDGAR DEHESA LÓPEZ

DIRECTOR DE TESIS

**NEFRÓLOGO ADSCRITO AL SERVICIO DE MEDICINA INTERNA DEL HOSPITAL
CIVIL DE CULIACÁN Y SUBDIRECTOR DE INVESTIGACIÓN DE CIDOCS**

DR. FELIPE DE JESUS PERAZA GARAY

DIRECTOR DE TESIS

**DOCTOR EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN PROBABILIDAD Y
ESTADÍSTICA, RESPONSABLE DEL ÁREA DE BIOESTADÍSTICA DE CIDOCS**

RESUMEN

TITULO: Frecuencia de infección por citomegalovirus asociado a abortos

INTRODUCCIÓN. El aborto es una preocupación en la medicina reproductiva, debido a su incidencia estimada del 70% de las concepciones. El 15% de las infecciones primarias por CMV en el primer trimestre de gestación terminan en abortos espontáneos.

OBJETIVOS. Determinar la frecuencia de infección por citomegalovirus a través de inmunohistoquímica en abortos espontáneos del primer trimestre de la gestación, su asociación al aborto y correlación de los hallazgos histopatológicos.

MATERIAL Y MÉTODOS. Se seleccionaron 76 muestras de abortos del primer trimestre de la gestación de un total de 547 casos recibidos en el departamento de Anatomía Patológica del Hospital Civil de Culiacán en el período de un año. Se realizó estudio de inmunohistoquímica en cortes embebidos en parafina, utilizando un anticuerpo monoclonal contra antígenos temprano inmediato (IEA) y tardío (LA).

RESULTADOS. De 76 casos, 17 (22%) resultaron positivos para antígeno de CMV. Con expresión nuclear en células epiteliales glandulares deciduales. Ninguno tenía cambios citopáticos o villitis crónica.

CONCLUSIONES. La frecuencia encontrada de infección por CMV es similar a la reportada en estudios previos: 18.7%¹, 23.5%², 34%³. Estos estudios reportan positividad en el trofoblasto. Nosotros solo lo encontramos en células epiteliales glandulares. Es posible que nuestros resultados se deban a una infección muy temprana que aún no alcanza a infectar células del trofoblasto o desarrollar una respuesta inflamatoria. Los hallazgos histológicos no sugieren que el virus esté implicado en el proceso de aborto de nuestros casos.

PALABRAS CLAVE. Citomegalovirus, aborto, inmunohistoquímica, villitis crónica, infección placentaria.

ABSTRACT

TITLE: Frequency of cytomegalovirus infection associated with abortions

INTRODUCTION. Abortion is a concern in reproductive medicine, due to its estimated incidence of 70% of conceptions. 15% of primary cytomegalovirus infections in the first trimester of pregnancy end in spontaneous abortions.

OBJECTIVES. To determine the frequency of cytomegalovirus infection through immunohistochemistry in spontaneous abortions of the first trimester of gestation, its association with abortion and correlation of histopathological findings.

MATERIAL AND METHODS. 76 samples of abortions of the first trimester of gestation were selected from a total of 547 cases received in the department of Pathological Anatomy of the Civil Hospital of Culiacán in the period of one year. Immunohistochemistry was performed in sections embedded in paraffin, using a monoclonal antibody against immediate (IEA) and late (LA) antigens.

RESULTS. Of 76 cases, 17 (22%) were positive for cytomegalovirus antigen. With nuclear expression in decidual glandular epithelial cells. None had cytopathic changes or chronic villitis.

CONCLUSIONS. The frequency of cytomegalovirus infection is similar to that reported in previous studies: 18.7%, 23.5%, 34%. These studies report positivity in the trophoblast. We only find it in glandular epithelial cells. It is possible that our results are due to a very early infection that does not yet reach to infect trophoblast cells or develop an inflammatory response. The histological findings do not suggest that the virus is involved in the abortion process of our cases.

KEYWORDS. Cytomegalovirus, abortion, immunohistochemistry, chronic villitis, placental infection.

INDICE

CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO	9
a. Introducción	9
b. Antecedentes	10
c. Epidemiología	12
d. Factores de riesgo.....	13
e. Patogénesis.....	14
f. Manifestaciones clínicas de la infección por cmvh	17
g. Diagnóstico.....	19
i. Diagnóstico prenatal	20
ii. Diagnóstico de infección congénita	21
iii. Diagnóstico histopatológico	22
iv. Estudio de Inmunohistoquímica	23
h. Tratamiento	26
i. Prevención.....	26
CAPÍTULO 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	29
CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN	30
CAPÍTULO 4. HIPÓTESIS.....	31
CAPÍTULO 5. OBJETIVOS	32
a. Objetivo general.....	32
b. Objetivos específicos	32
CAPÍTULO 6. MATERIAL Y MÉTODOS	33
a. Diseño del estudio:.....	33
b. Universo de estudio:	33

c. Lugar de realización:.....	33
d. Período de tiempo de realización:	34
e. Criterios de inclusión:.....	34
f. Criterios de exclusión:	34
g. Criterios de eliminación:	35
h. Análisis estadístico:.....	35
i. Cálculo del tamaño de la muestra:	35
j. Descripción general del estudio:	36
k. Definición operacional de las principales variables:	38
l. Estandarización del instrumento de medición:	39
CAPÍTULO 7. ASPECTOS ÉTICOS.....	40
CAPÍTULO 8. RECURSOS Y FINANCIAMIENTO	41
CAPÍTULO 9. RESULTADOS	42
CAPÍTULO 10. DISCUSIÓN.....	46
CAPÍTULO 11. CONCLUSIONES	51
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

CAPÍTULO 1

MARCO TEÓRICO

INTRODUCCIÓN

El aborto es una gran preocupación en la medicina reproductiva, debido a que su incidencia estimada es del 70 % de las concepciones humanas, con alrededor del 50 % de pérdida antes del retraso de la menstruación. Por lo tanto, la mayoría de estos abortos permanecen sin ser reconocidos. De los embarazos clínicamente diagnosticados, el 15 al 20 % terminan en aborto espontáneo antes de la semana 20 de gestación.¹

Los factores etiológicos son muchos. Más de la mitad son debidos a anomalías cromosómicas² y en el resto se incluyen las infecciones (sobre todo citomegalovirus, rubéola, campylobacter, listeria, sífilis, toxoplasmosis y posiblemente el virus del papiloma humano), alteraciones mecánicas, enfermedades endocrinas y mecanismos inmunológicos.³

La infección de la placenta se debe más comúnmente a los organismos que ascienden desde el tracto vaginal materno, siendo las más frecuentes las bacterias. Dentro de los organismos implicados en placentitis adquirida a través de la vía hematógena son numerosos y es donde se incluye al citomegalovirus.

La enfermedad por citomegalovirus es una de las infecciones más comunes en todas las poblaciones humanas, es causada por citomegalovirus humano (CMVH) que pertenece a la familia Herpesviridae. La prevalencia de anticuerpos IgG HCMV, dependiendo de la región del mundo, oscila entre el 40 - 80% en las mujeres adultas. En Estados Unidos 3%-12% de las mujeres embarazadas presenta una infección

activa, ésta se puede observar tras una nueva infección o por una recurrencia⁴. La infección primaria se encuentra en 1-4 % de las mujeres embarazadas, mientras que se puede producir una reinfección en 0.5-1 % de los embarazos. Sin embargo, hay estudios que demuestran que en poblaciones con alta seroprevalencia de CMVH, la mayoría de las infecciones congénitas son por una infección no primaria, por lo que la inmunidad preconcepcional solo provee una protección parcial frente a la transmisión vertical del virus⁵. Factores de riesgo para la infección incluyen: bajo nivel socioeconómico, 30 años de edad y el contacto frecuente con niños pequeños. El citomegalovirus humano es la principal causa viral de defectos de nacimiento en todo el mundo, 0.2 a 2.2 % de todos los nacimientos vivos, y es una causa principal de la pérdida de audición inducida por la infección y de retraso mental.⁶

El diagnóstico de inclusiones virales únicas rara vez se encuentra en estudio histopatológico de las muestras de abortos, sin embargo, la tinción inmunohistoquímica de antígenos de CMVH a menudo es positiva. Estudios han demostrado que aproximadamente 10% de los casos de villitis crónicas son debidos a infección por CMVH.³ Sin embargo no siempre es posible encontrar estos cambios inflamatorios crónicos.

ANTECEDENTES

El citomegalovirus es un virus de ADN de doble cadena y es un miembro de la familia Herpesviridae. Los otros miembros de la familia incluyen virus herpes simple tipo 1 (HSV- 1 o HHV- 1) y el virus del herpes simple tipo 2 (HSV- 2 o HHV- 2), virus de la varicela zoster (VZV), virus herpes humano (HHV) -6, HHV - 7 y HHV - 8. El CMV comparte muchos atributos con otros virus del herpes, incluyendo el genoma, la estructura del virión, y la capacidad de causar infecciones latentes y persistentes. Tiene el genoma más grande de los virus del herpes. La replicación puede ser categorizada en temprana inmediata, temprana tardía y la expresión génica tardía, se

basa en el tiempo de la síntesis después de la infección, tomando en cuenta que el ADN se replica en círculos continuos.⁷ La replicación del ADN viral es requisito previo para que ocurra la última transcripción viral del gen por proteínas estructurales de la etapa tardía (gB), lo que tiene particular importancia como antígeno en la respuesta inmune, tanto celular y humoral.⁸ El CMV humano crece sólo en las células humanas y se replica mejor en fibroblastos.⁷

El CMVH es un virus lítico que causa un efecto citopático in vitro e in vivo. La característica patológica de la infección es una célula ampliada con cuerpos de inclusión virales. La descripción microscópica dada a estas células es más comúnmente las llamadas células con "ojo de búho" (figura 1). Aunque se considera de diagnóstico, tales hallazgos histológicos pueden ser mínimos o ausentes en los órganos infectados.⁷

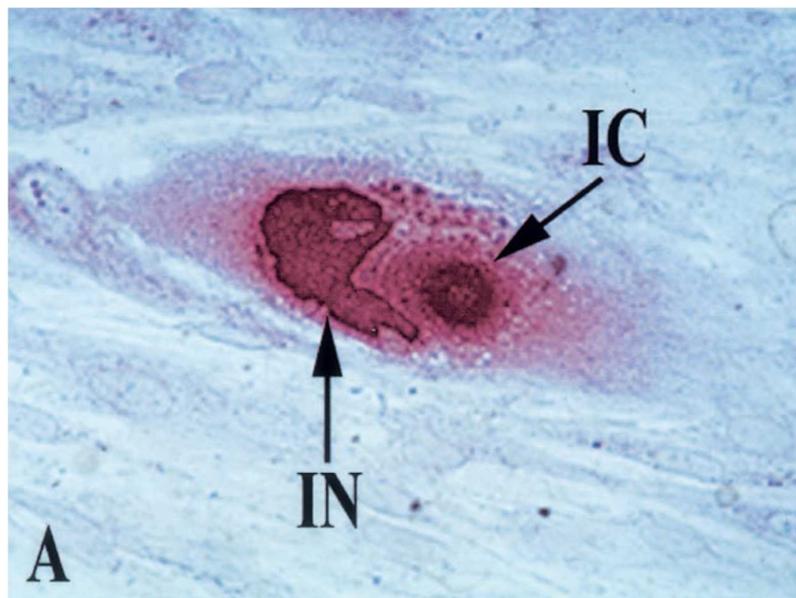


Figura 1. Fibroblasto humano infectado con CMVH 120 h post infección que muestra los cuerpo de inclusión intranucleares (IN) e intracitoplasmáticos (IC)

Los cambios citopáticos reflejan una respuesta a infección viral. Las inclusiones nucleares son parte de la respuesta a los virus de ADN, sin embargo las inclusiones citológicas se ven solo en algunas infecciones virales de ARN y ADN, tales como el citomegalovirus.⁹

Tras la infección, permanece en estado latente en el individuo, teniendo reactivaciones periódicas y excretándose de forma intermitente por orina, saliva, semen, secreción vaginal y leche materna. La infección se adquiere por contacto directo con secreciones contaminadas.¹⁰

La primoinfección en la embarazada suele ser asintomática, aunque en un 30% de los casos aparece fiebre prolongada, un cuadro seudogripal o un síndrome mononucleótico con alteración de las pruebas de función hepática, linfocitosis y trombocitopenia. La infección puede ocurrir durante todo el embarazo, si bien la gravedad es mayor en el primer y en el segundo trimestre, la posibilidad de transmisión al producto es mayor en el tercero.¹⁰

Es comúnmente reconocido que las infecciones primarias CMVH se transmiten con más frecuencia al feto y son más propensas a causar daño fetal que las infecciones recurrentes. Además, parece que la infección primaria ocurrida a una edad gestacional más temprana se relaciona con un peor resultado.¹¹

EPIDEMIOLOGÍA

La tasa de seroprevalencia del CMVH es de alrededor del 90% en la población mundial. En América Latina la presencia de anticuerpos contra el virus es variable, en Brasil se reporta una frecuencia de 40%, mientras que en Chile es de 60%, en Costa Rica 95%, Venezuela 93.3%. En México la prevalencia de infección por CMVH es de hasta 58% en mujeres en edad reproductiva.¹²

Existen pocos estudios que analizan la seroprevalencia en nuestro país, en 2008, Gutiérrez Salinas menciona que el 85.23% de la población presenta Ig contra CMVH, con un número importante de muestras obtenidas de paciente hematológicos.¹²

Lucio MPF y cols., reportan una seroprevalencia de 21.4% en muestras de sangre materna y del 18.7% en estudios realizados en trofoblasto de embarazos del primer trimestre de la gestación de mujeres mexicanas.⁸

En mujeres con infección primaria durante el embarazo la transmisión a feto se dará en hasta un 40% de los casos, de éstos solo el 10% presentará síntomas al nacimiento. De los recién nacidos sintomáticos 20% mueren, y de los que logran sobrevivir el 90% presentará secuelas.¹²

Dentro de las pacientes previamente inmunes se puede presentar una reinfección o reactivación del virus, de éstas solo el 1 al 2% lo transmitirá al feto y la gran mayoría (>90%) estarán asintomáticos al nacimiento. A largo plazo 10 al 15% de los pacientes asintomáticos presentarán secuelas.¹²

Los lactantes también adquieren CMVH en la etapa perinatal a partir de infección crónica o reactivada en la madre, pero la transmisión ocurre en menos del 1 % de los casos. La alimentación al seno materno parece ser un factor importante en la transmisión posnatal del virus.¹

FACTORES DE RIESGO

Edad: Se ha visto que la prevalencia del anticuerpo para CMVH se incrementa con la edad, especialmente entre los 15 y 30 años de edad.¹³ En promedio se ha reportado una edad de 24 años en mujeres embarazadas.⁴

Nivel socioeconómico bajo. Se ha visto que la tasa puede ser 1.7 veces mayor entre mujeres de bajo nivel socioeconómico⁴.

Actividad sexual: El virus también puede propagarse por transmisión sexual. La infección es más común dentro de las mujeres sexualmente activas¹³ y se correlaciona con un número elevado de parejas sexuales. El riesgo de presentar la infección es 2.7 veces mayor en mujeres con más de tres parejas sexuales⁴. El coito inicial a edad temprana también ha sido asociado.¹³

Exposición a niños pequeños: Estudios publicados demuestran que tanto las mujeres embarazadas como las no embarazadas casi siempre contraen la infección a través de la exposición a niños infectados.¹

Múltiples embarazos: Probablemente relacionado al punto anterior, se ha encontrado que las mujeres multigestas tiende un riesgo de 1.8 veces más de contraer la infección por CMVH.¹³

PATOGÉNESIS

Poco se sabe aún acerca de los mecanismos de transmisión de CMVH para el feto o de su implicación en el proceso de aborto. Se ha informado que alrededor del 15 % de las mujeres que cursan con una infección primaria durante los primeros meses de embarazo abortan espontáneamente, mostrando infección de la placenta pero no fetal. Posteriormente, en el curso del embarazo, la infección placentaria ha demostrado ser consistentemente asociada con la infección fetal.¹¹

El paso inicial de la infección congénita se cree que ocurre en la decidua, la cara materna de la estructura de interfaz materno-fetal, en donde el virus que se origina de la madre se amplifica antes de su diseminación a la placenta adyacente. Weisblum y cols., identificaron una amplia variedad de células que son infectadas por CMVH en la

decidua, incluyendo citotrofoblasto, células endoteliales, macrófagos, células estromales deciduales y células dendríticas. La entrada del virus a las células se da a través de dos vías, ya sea por fusión en la superficie celular o por endocitosis, como se observa en fibroblastos y en células endoteliales/epiteliales, respectivamente.¹⁴

La comprensión de los mecanismos de transmisión de HCMV al feto y de su posible participación en la pérdida del embarazo, implica esclarecimiento de algunos pasos importantes en el desarrollo de la placenta.

El desarrollo de la placenta requiere diferenciación de células madre epiteliales especializadas, referidas como citotrofoblastos, tanto en las vellosidades flotantes, donde se diferencian por fusión formando células multinucleadas llamadas sincitiotrofoblastos que cubren la superficie vellosa, y en las vellosidades de anclaje, donde se agregan en columnas de células individuales que invaden el endometrio y el primer tercio del miometrio (también referido como citotrofoblasto invasor). Mientras que el sincitiotrofoblasto está en contacto directo con la sangre materna, mediando el transporte de múltiples sustancias desde y hacia el feto, las columnas de citotrofoblastos también invaden arteriolas maternas (invasión endovascular) reemplazando a las células endoteliales y de músculo liso así como la población de células híbridas generadas de células fetales y maternas dentro de los vasos uterinos.¹¹

El sincitiotrofoblasto regula de manera ascendente la expresión del receptor Fc neonatal para la inmunoglobulina G (IgG), que participa en el transporte de IgG materna al feto. En paralelo, el citotrofoblasto inicia la expresión de moléculas de adhesión, tales como la integrina $\alpha 1\beta 1$, y proteinasas, que son necesarias para la invasión, además de moléculas que inducen la tolerancia inmune materna, tales como HLA -G y la interleucina- 10. Además, en el proceso llamado pseudovasculogénesis, las células que están invadiendo modifican el fenotipo de sus moléculas de adhesión, imitando las de las células endoteliales mediante la expresión de la integrina $\alpha \beta 3$, un marcador de endotelio angiogénico, y cadherina de endotelial vascular, un marcador de la polarización celular.¹¹

Las células de la placenta son importantes en el establecimiento de una infección viral a través de la ruta hematogena. El virus infecta primero a las células trofoblásticas en el espacio intervilloso, donde circula la sangre materna, y luego al estroma y células endoteliales fetales. Otra posibilidad es que las células del citotrofoblasto invasor pueden llegar a las células endoteliales infectadas en la pared uterina o células de músculo liso infectadas, y adquirir el virus después de lo cual el CMVH se podría diseminar a las vellosidades coriónicas por migración retrógrada (figura 2).¹

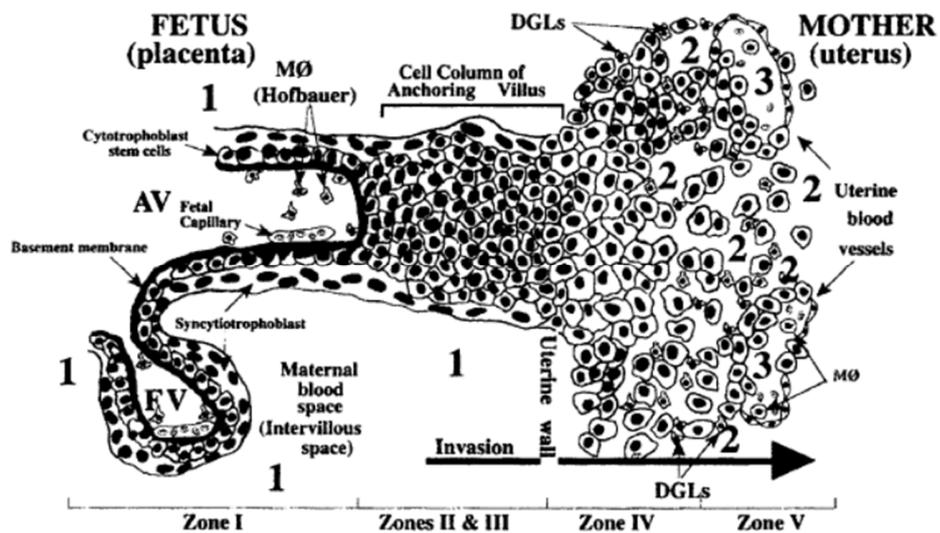


Figura 2. Diagrama de una sección longitudinal que incluye una de vellosidad coriónica de anclaje y una flotante en la interfase materno-fetal hacia el final del primer trimestre del embarazo. La vellosidad de anclaje (AV) funciona como un puente entre los compartimentos fetal y materno mientras que la vellosidad flotante (FV), que contiene a los macrófagos (M, células Hofbauer) y los vasos sanguíneos fetales, está bañada por la sangre materna. El citotrofoblastos en las vellosidades de anclaje (zona I) forma columnas de células que se adhieren a la pared del útero (zonas II y III). El citotrofoblasto invade entonces el intersticio uterino (decidua y primer tercio del miometrio; zona IV) y la vasculatura materna (zona V), anclando de ese modo el feto a la madre y accediendo a la circulación materna. Las zonas designadas marcan áreas en las que el citotrofoblasto tiene distintos patrones de etapa de expresión antigénica específica, incluyendo la integrina y HLA-G. Se indican los leucocitos deciduales granulares (DGLs) y macrófagos (M) en la sangre materna y en los capilares fetales de los núcleos de

las vellosidades. Las áreas propuestas como sitios de transmisión natural del CMVH a la placenta en el útero están numeradas 1, 2 y 3.

El papel que juega la infección por CMVH en el proceso de aborto es un tema en estudio, sin embargo Fisher y cols., encontraron que las células del citotrofoblasto infectadas tienen una expresión disminuida de la integrina receptora para laminina/colágeno $\alpha 1\beta 1$ resultando en una invasión débil en la matriz extracelular. Además la expresión de la molécula HLA-G del complejo mayor de histocompatibilidad clase Ib, también se encuentra disminuida o ausente en una etapa tardía después de la infección, cuando los niveles de la proteína gB del CMVH están aumentados, y por consecuencia puede haber una activación de la respuesta inmune materna a través de células NK (natural killer).¹⁵ Estos hechos apoyan la participación directa del CMVH en los abortos espontáneos, debido a que la infección viral activa puede alterar la organización normal de tejido placentario. Además del aborto, dicho proceso podría estar implicado el desarrollo del parto pretérmino y la restricción del crecimiento intrauterino.

Por lo tanto, la observación microscópica de la morfología celular podría ser de gran ayuda en el diagnóstico y la comprensión del mecanismo de infección. Estudios sobre la morfología de la placenta en la infección congénita por CMVH han informado de hallazgos que van desde la destrucción masiva de las vellosidades por la inflamación necrótica severa a la ausencia de lesiones, con o sin lesión fetal. Sin embargo, las lesiones inflamatorias reportadas hasta la fecha no pueden considerarse marcadores inequívocos de la infección por CMVH, debido a que el hallazgo de inclusiones virales es poco frecuente.¹

MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA INFECCIÓN POR CMVH

La enfermedad es variable en las personas infectadas por CMVH y va desde la ausencia de enfermedad hasta el Síndrome Congénito que puede ser mortal, pasando por el síndrome de mononucleosis infecciosa. Los inmunocomprometidos como los neonatos, las embarazadas y pacientes con trasplante de órgano sólido o médula ósea son más susceptibles de presentar enfermedad por CMVH.¹⁶

Los sitios más a menudo implicados en huéspedes inmunocompetentes incluyen los pulmones (neumonía viral grave adquirida en la comunidad), hígado (transaminasas), bazo (esplenomegalia), tracto GI (colitis), SNC (encefalitis), sistema hematológico (citopenias), y afectación multisistémica (fiebre de origen desconocido origen). Los sitios poco frecuentes de las infecciones por CMVH en individuos inmunocompetentes incluyen los riñones, las glándulas suprarrenales, glándulas salivales, el páncreas y esófago.⁷

La infección sintomática típica se presenta con malestar generalizado, fiebre, lasitud, linfadenopatía y faringitis, semejante a un síndrome similar a mononucleosis causado por virus de Epstein-Barr (EBV). Las complicaciones graves que incluyen hepatitis, neumonitis intersticial y meningoencefalitis, y el síndrome de Guillain-Barré por mononucleosis inducida por CMV son raras. Los pacientes inmunocompetentes suelen recuperarse en unas pocas semanas.¹⁷

En los pacientes con compromiso del estado inmunológico, la infección aguda por CMV sigue un curso más agresivo y prolongado. Puede cursar con neumonitis, retinitis, encefalopatía y úlceras gastrointestinales.¹⁷

En las mujeres embarazadas, como ya se ha mencionado antes, algunos investigadores mostraron relación significativa entre la infección por CMVH y aborto espontáneo. También hay evidencias que sugieren que el CMVH dará lugar a embarazos complicados y que el riesgo de daño fetal es mayor si la infección primaria se produce durante el primer trimestre del embarazo.¹⁸

El 90% de los individuos con infección congénita son asintomáticos al nacimiento, 5-17% desarrollan síntomas como pérdida auditiva neurosensorial,

coriorretinitis o déficit neurológico que puede manifestarse desde los primeros 2 días de vida. Del 10% de los recién nacidos sintomáticos, el 20% muere y el 80% de los sobrevivientes pueden desarrollar secuelas neurológicas.¹⁶

Un tercio de las infecciones congénitas cursan con prematuridad y la mitad de los niños son pequeños para la edad gestacional. Cuando se sospecha de enfermedad congénita sintomática por CMV, los signos y síntomas que deben investigarse incluyen: exantema, petequias, retraso en el crecimiento intrauterino, microcefalia, hepatoesplenomegalia e ictericia. A largo plazo, casi la mitad de estos pacientes pueden mostrar alteraciones en el sistema nervioso central, hipoacusia, dificultades para el aprendizaje, microcefalia y en raras ocasiones disminución de la agudeza visual.¹⁶

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de infección primaria durante el embarazo es una tarea mayor para los laboratorios de virología, debido a la alta tasa de transmisión al feto en estas pacientes frente a las pacientes con reactivación o reinfección. Para estos efectos la serología es la prueba diagnóstica de referencia. La demostración de seroconversión es el método más fiable para el diagnóstico de infección primaria, sin embargo, la falta de controles pregestacionales hace que en muchas ocasiones sólo se disponga de un control aislado durante el embarazo realizado tras la aparición de alteraciones clínicas o ecográficas sugestivas. En este caso, se debe recurrir a la determinación de inmunoglobulina (Ig) M frente a CMV mediante enzoinmunoanálisis de captura o inmunoblot para evitar falsos positivos. Ante una IgM positiva en ausencia de anticuerpos IgG, éstos se repetirán en las 2 a 3 semanas posteriores para demostrar seroconversión. Si la IgG sigue siendo negativa, se considerará un falso positivo de la IgM, que puede presentarse por reactividad heteróloga con otros herpes virus, especialmente con el virus de Epstein-Barr.¹⁰

Si la gestante presenta IgM e IgG positivas en la primera determinación, no se puede asegurar que la infección sea muy reciente, ya que, aunque los anticuerpos IgM suelen negativizarse entre los 3 a 4 meses, pueden persistir hasta 9 meses después de la primoinfección. Además, la IgM puede positivizarse en gestantes previamente inmunes por reactivación o reinfección vírica. Por tanto, es indispensable la realización de un estudio de avidez de los anticuerpos IgG. La presencia de anticuerpos IgM y anticuerpos IgG de alta avidez en el primer trimestre puede deberse a una infección pregestacional o, con menos frecuencia, a reactivación o reinfección vírica. Una baja avidez dentro de los 3 meses previos a la determinación indica una primoinfección reciente.¹⁰

Diagnóstico prenatal

Las muestras clínicas que actualmente se utilizan para el diagnóstico prenatal son sangre fetal extraída por cordocentesis y del líquido amniótico obtenido por amniocentesis. La cordocentesis permite el muestreo de sangre fetal a través del cordón umbilical. Se realiza generalmente después de 17 semanas de gestación y se completa en unos pocos minutos. Las complicaciones de la cordocentesis, que se producen en una tasa baja, pueden incluir sangrado transitorio, bradicardia fetal transitoria (7 a 9%), parto prematuro (< 2,0 a 5,0 %), y la pérdida fetal (1.7 a 1.9 %).¹⁹

Sin embargo, este método no se recomienda sobre todo por los riesgos a los que se asocia la cordocentesis. Además de tener una pobre sensibilidad, ya que el feto puede tardar en desarrollar IgM específica, lo que ocurre a menudo en etapas más avanzadas del embarazo. La cordocentesis puede ser un complemento útil a la amniocentesis.¹⁹

La amniocentesis se introdujo por primera vez para el diagnóstico de la anemia hemolítica inmune. Aunque son raras, las complicaciones de la amniocentesis, éstas pueden incluir pérdida fetal (1 %), la fuga de líquido amniótico y sangrado vaginal.²⁰

El cultivo vírico del líquido amniótico es 100% específico, pero tiene muchos falsos negativos. El mejor método diagnóstico es la PCR (reacción en cadena de la polimerasa), que presenta una excelente sensibilidad (del 90 al 98%) y especificidad (del 92 al 98%), por lo que un resultado positivo prácticamente confirma la infección fetal, mientras que uno negativo la hace muy improbable.¹⁰

Diagnóstico de infección congénita

El diagnóstico de la infección congénita se puede hacer mediante la demostración de CMVH; por aislamiento del virus a partir de la orina (Técnicas de cultivo); mediante la detección de CMVH- IgM en la sangre (Pruebas serológicas); detección de antígeno contra CMVH (Antigenemia) en muestras de sangre y la identificación de ADN de CMVH por PCR a partir de muestras.¹⁹

En los últimos años, la detección directa de antígeno pp65, proteína estructural tardía expresada en leucocitos de sangre durante la fase temprana del ciclo de replicación del CMVH, se ha aplicado con éxito para el diagnóstico precoz de las infecciones. Debido a que este método permite un diagnóstico anticipado a la aparición de los síntomas clínicos, es posible el tratamiento preventivo dirigido usando hiperinmunoglobulina. Por lo tanto, es necesaria la detección de CMVH ya que es una infección frecuente y con potencial de desarrollar complicaciones.¹⁹

Diagnóstico histopatológico

Tradicionalmente, el diagnóstico de infecciones virales se ha basado sobre los cambios citopáticos observados en la histopatología de rutina. Sin embargo, en algunos casos los cambios citopáticos característicos son a menudo tan sutiles y escasos que requiere una búsqueda extensa.²¹

La característica histológica mayor de infección de la placenta por CMVH es la villitis crónica linfoplasmocitaria, pero también pueden encontrarse necrosis focal y vasculitis. Entre los factores importantes en la patogenia están el efecto citopático directo del virus, la reacción inflamatoria o inmunorreacción por parte del feto y de la placenta misma. Estudios en gemelos enfatizan la importancia de la inmunorreacción fetal en la abolición de la infección por CMVH.²² Los cambios histológicos generalmente pueden ser observados en embarazos del segundo y tercer trimestre con infección por CMVH comprobada, y las inclusiones virales se pueden encontrar tras una búsqueda meticulosa. En embarazos tempranos se cree que el feto tiene un sistema inmune inmaduro que no le permite producir células plasmáticas y por lo tanto reaccionar frente al virus produciendo una respuesta inflamatoria, por ello es raro encontrar características sugestivas de infección en el análisis microscópico. En dos casos reportados se encontró presencia de células plasmáticas a las 14 semanas de gestación.^{23, 24}

El diagnóstico histológico de citomegalovirus en tejidos fijados generalmente se basa en la identificación de las características de los efectos citopáticos, abarcando las inclusiones intranucleares o citoplásmicas o ambos. Sin embargo, el examen histológico carece de sensibilidad, y en algunos casos las características citopáticas atípicas pueden confundirse con cambios reactivos o degenerativos.²⁵ La inmunohistoquímica es altamente específica y sensible en estos casos o cuando las inclusiones virales presentes no pueden ser identificadas con confianza y diferenciadas de las de otras enfermedades virales.²⁶

Estudio de Inmunohistoquímica

Es una potente herramienta que permite la detección y visualización de moléculas de proteínas en las células o en su superficie a través de los microscopios tradicionales. Es un método basado en las reacciones inmunoenzimáticas usando anticuerpos mono o policlonales (proteínas del tipo inmunoglobulina G) para detectar antígenos de células en los tejidos. La utilización de este principio de reacción antígeno-anticuerpo la hace una técnica muy específica.

La mayoría de las técnicas de inmunohistoquímica puede utilizarse en tejidos fijados e incluidos en parafina con buenos resultados, siempre y cuando la fijación tisular, su procesado e inclusión se realicen adecuadamente ya que un mal manejo del tejido en el tratamiento previo puede producir pérdida de antigenicidad y por lo tanto obtener resultados no fiables.²⁷

El proceso consiste en poner un corte histológico del tejido en estudio en incubación con una sonda (anticuerpo) que reconoce al antígeno y se fija a él.

Los anticuerpos policlonales son obtenidos a través de inmunización de un animal, por lo general se realiza en conejos, con el antígeno purificado. Con esto se producen una mezcla de anticuerpos específicos contra diferentes determinantes antigénicos de la molécula. La ventaja principal de este tipo de anticuerpos policlonales es que al ser capaces de reconocer varios epítopos distintos, solo es necesario que alguno de ellos mantenga su integridad para obtener resultados favorables. Dentro de las desventajas es que este tipo de sueros exige complicadas técnicas de purificación para de esta manera evitar la presencia de anticuerpos naturales inespecíficos contaminantes. Además de también resultar en reacciones cruzadas frente a radicales similares presentes en el tejido.

Por otro lado están los anticuerpos monoclonales, los cuales se obtienen a partir de células de mieloma de ratón que se encuentran fusionadas con células B humanas o de un animal, productoras del anticuerpo deseado, llamados hibridomas. A través de esta técnica se consigue una población de células con crecimiento indefinido, la cuales producirán un solo anticuerpo específico. Es tipo de anticuerpos son extremadamente puros, afines y ávidos, pero su uso requiere un cuidado extremo en el tratamiento del tejido para evitar que el único determinante a reconocer se encuentre alterado. Por lo general en la práctica son los anticuerpos más recomendados y con los que se obtienen mejores resultados.

Una vez que el anticuerpo reconoce al antígeno y se lleva a cabo la unión, es necesario tener una suficiente cantidad de moléculas de anticuerpos fijadas al antígeno, de tal manera que permitan ser visualizadas en el microscopio óptico. Para esto es necesario utilizar sistemas que amplifiquen e intensifiquen esa señal, existen diferentes métodos, siendo los más utilizados los que utilizan un anticuerpo secundario, el cual ha sido modificado de una manera adecuada. Cuando los antígenos en el tejido se encuentran en suficiente cantidad, éstos pueden ser observados de manera directa a través de inmunofluorescencia.

La reacción tiene que ser revelada para su demostración visual con una sustancia llamada cromógeno, como la diaminobencidina, el cual es oxidado al llevarse a cabo la unión de la enzima que va unida al anticuerpo (peroxidasa) con su sustrato específico (peróxido de hidrógeno) en presencia del cromógeno. Las moléculas oxidadas de diaminobencidina forman polímeros insolubles color marrón oscuro que le da ese color específico al tejido y de esta manera pueden obtenerse preparaciones histológicas permanentes y con eso la técnica queda concluida. Dicha reacción se puede dar en la membrana citoplasmática, en el citoplasma o en el núcleo y es importante conocer en dónde es esperado que se vea la expresión para evitar falsos positivos (figura 3).

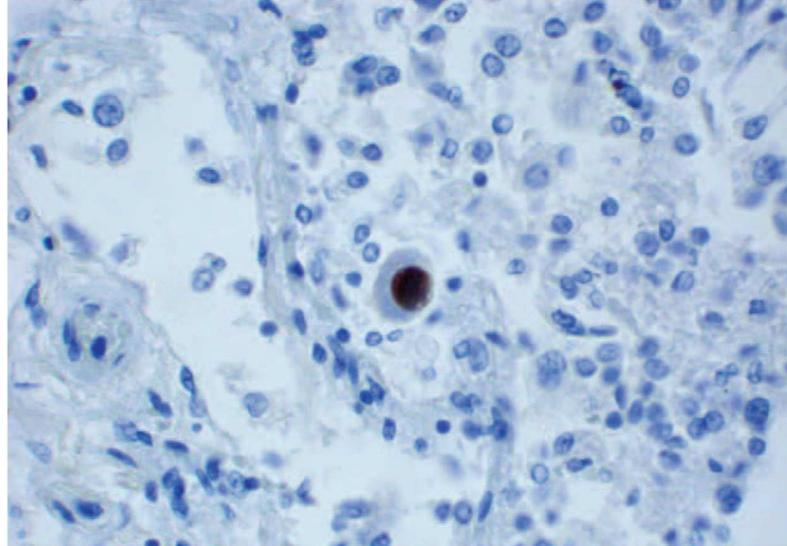


Figura 3. Paciente inmunocomprometido con pneumonitis por Citomegalovirus CMV. Macrófagos con antígeno de CMV intranuclear (inmunoperoxidasa con diaminobencidina y contratinción de hematoxilina, magnificación de x400)²⁸

Los anticuerpos monoclonales contra antígenos de CMVH temprano y tardío permiten la detección de antígenos de CMVH en el núcleo y el citoplasma de las células infectadas. Además, la inmunohistoquímica permite la detección de antígenos de CMVH temprano en el curso de la enfermedad aun cuando los cambios citopáticos no se han desarrollado. Esta técnica ha sido útil en la detección de la infección por CMVH en pacientes con colitis ulcerosa refractaria a esteroides y en la detección de infección por CMVH oculta del sistema nervioso central en pacientes con trasplante de hígado que desarrollan complicaciones neurológicas.²⁵ La sensibilidad de la inmunohistoquímica es mejor que la identificación por microscopia de luz de inclusiones virales, se compara favorablemente con el cultivo y la hibridación in situ.²⁸ Se ha reportado que la detección del citomegalovirus en diferentes tejidos embebidos en parafina por medio de inmunohistoquímica tiene una sensibilidad de 75.7% y una especificidad de 100%.²⁹ Sin embargo, con esta técnica no es posible diferenciar entre una infección primaria o una recurrencia, ya sea reactivación o reinfección, pues solo se detecta la replicación activa del virus en cualquiera de estas circunstancias.

TRATAMIENTO

El tratamiento se puede considerar ya sea durante el embarazo (prenatal) o basado en la severidad de los síntomas clínicos (posnatal). Los antivíricos con mayor actividad frente a CMV (ganciclovir, cidofovir y foscarnet), como se ha demostrado en los pacientes inmunocomprometidos, tienen efectos teratógenos en animales y no se recomiendan durante el embarazo. Algunos estudios apoyan la eficacia de la terapia antiviral en la infección fetal y en los infantes congénitamente infectados, sin embargo en todos estos estudios la reducción o la ausencia de excreción del virus se observó durante la terapia, pero después de suspenderla el virus reapareció.¹¹

Más prometedor es el uso de gammaglobulina específica frente a CMV (GG-CMV) en embarazadas con infección fetal demostrada. La GG-CMV tiene efectos inmunomoduladores, reduce la carga vírica materna y disminuye la inflamación placentaria, consiguiendo un incremento del flujo sanguíneo que mejora la nutrición y la oxigenación fetal.¹⁰

La principal meta sería prevenir la transmisión del virus al feto en mujeres con infección primaria de CMVH y la combinación de globulina hiperinmune con medicamentos antivirales de baja toxicidad podría ser el mejor abordaje en el futuro.¹¹

PREVENCIÓN

Actualmente no hay ningún programa de salud oficialmente establecido para la prevención de la infección por CMVH a pesar que las cifras reportadas relacionadas a

la morbilidad de la infección representan un problema de salud pública, una de las limitantes es que no hay una vacuna aprobada disponible.

Debido al hecho de que la infección congénita es la principal causa infecciosa de retraso mental en los niños, el CMVH se considera un candidato ideal para la erradicación de la población humana a través de la vacunación.¹¹

Las vacunas se encuentran todavía en fase de experimentación, aunque hay estudios prometedores con la vacuna Towne de virus vivos atenuados o la vacuna recombinante de glucoproteína B y el adyuvante MF/59. Ambas son seguras y producen anticuerpos neutralizantes en voluntarios sanos. Sin embargo, la vacuna Towne no consiguió prevenir la infección de mujeres seronegativas con hijos en guardería que excretan CMV.¹⁰

Recientemente se ha evaluado la prevención de la infección fetal en mujeres con primoinfección durante el embarazo mediante el uso de gammaglobulina (GG) humana contra CMV. Se documentó infección congénita en el 16% de las mujeres que recibieron gammaglobulina mensual (100U/kg) hasta el momento del parto frente a un 56% de las que no la recibieron ($p < 0.001$).¹⁰

Revello y cols, proponen la detección serológica universal como medida de prevención, la cual consiste en determinar el estado serológico de las pacientes en edad reproductiva antes del embarazo, con las ventajas de que es un estudio más accesible pues solo necesita la determinación de IgG específica, las mujeres seropositivas podrán estar tranquilas e informadas de que no necesitan estudios posteriores, las que resulten seronegativas estarán conscientes de los posibles riesgos y tomarán las medidas preventivas necesarias, además que el monitoreo de las mujeres seronegativas embarazadas sería más fácil y menos costoso.¹¹

En la actualidad la única medida preventiva a la que tenemos acceso son las higiénicas. El CMV requiere para su transmisión un contacto directo con secreciones corporales y se destruye fácilmente mediante el calor, el jabón, los detergentes y los desinfectantes. El principal factor de riesgo para la embarazada es el contacto estrecho

con niños en edad preescolar. Se ha demostrado que el 40% de los niños en guardería excreta CMV por saliva u orina durante una media de 24 meses. Por tanto, la probabilidad de seroconversión durante el embarazo es más alta en mujeres que trabajan asiduamente con estos niños (empleadas de hogar, de guardería o de hospitales) o tienen hijos en guardería.³⁰

Un estudio realizado en mujeres embarazadas con riesgo de infección primaria por CMVH a las que se les dio información y orientación sobre las medidas de prevención frente a otro grupo al que no se hizo ninguna intervención³¹, se encontró que las estrategias de prevención primaria basadas en la identificación y provisión de información adecuada son altamente efectivas en reducir la tasa de infección primaria por CMVH durante el embarazo y por tanto, de infección congénita. En este estudio las mujeres que recibieron información tuvieron una prevalencia de 1.2% de seroconversión y en las que no se tuvieron ninguna intervención la seroconversión fue de 7.6%, lo cual si mostró una diferencia significativa ($p < 0.001$).

En espera de una vacuna efectiva que limite la infección congénita y ante el costo alto de la globulina hiperinmune, es necesario buscar estrategias preventivas alternas para reducir la tasa de infección primaria durante el embarazo. La difusión de la información y orientación sobre la importancia de las medidas higiénicas es un primer paso que hay que considerar.

CAPÍTULO 2

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Qué tan frecuente es encontrar infección por Citomegalovirus en las muestras de restos óvulos placentarios?

CAPÍTULO 3

JUSTIFICACIÓN

Tomando en cuenta que el citomegalovirus es la causa de infección congénita más frecuente y sus manifestaciones en el recién nacido pueden dejar graves secuelas o incluso llevarlo a la muerte, así como también se le atribuye un papel importante como causas de aborto espontáneo en mujeres embarazadas, se realiza este estudio para determinar la frecuencia de la presencia del citomegalovirus en las muestras de residuos coriodeciduals de nuestra población, pues la identificación temprana de una infección en mujeres embarazadas se torna difícil debido a que muchas de éstas no tienen manifestaciones clínicas o son tan inespecíficas que se atribuyen a otro tipo de infecciones, de ahí la importancia de saber qué tan expuesta se encuentra nuestra población a este virus, de tal manera que se justifique la implementación de medidas de prevención y su detección temprana en el embarazo para darle un adecuado seguimiento tanto al periodo gestacional como, una vez que suceda el parto, al recién nacido.

Debido a la gran cantidad de muestras de abortos del primer trimestre es importante reconocer los patrones histopatológicos que se presentan en las muestras que presentan la infección por CMVH activa para en los casos futuros poder reconocerlos y orientar a personal médico que está en contacto con las pacientes para la vigilancia en futuros en embarazos.

CAPÍTULO 4

HIPÓTESIS

La frecuencia de infección por citomegalovirus en las muestras de abortos del primer trimestre en nuestra población será del 18%.

CAPÍTULO 5

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la frecuencia con la que se presenta la infección por citomegalovirus en las muestras de restos coriódéciduales de abortos espontáneos que llegan al servicio de patología en el período de un año.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir los patrones histopatológicos de las infecciones por citomegalovirus.
- Correlacionar los patrones histopatológicos de las infecciones por citomegalovirus con la detección de antígenos por inmunohistoquímica.
- Correlacionar los datos epidemiológicos de las pacientes que presenten la infección.

CAPÍTULO 6

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio:

Descriptivo, ambispectivo, transversal.

Universo de estudio:

Todas las muestras de restos coriodeciduals enviadas al departamento de anatomía patológica del Hospital Civil de Culiacán, durante el periodo del 1 de marzo de 2015 al 29 de febrero de 2016.

Lugar de realización:

Departamento de Anatomía Patológica del Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud/Hospital Civil de Culiacán.

Período de tiempo de realización:

Fecha de inicio: 1º de Marzo de 2015

Fecha de término: 31 de Octubre del 2016

Criterios de inclusión:

- Todos los restos coriodeciduals que llegaron al departamento de Anatomía Patológica durante el periodo del 1 de marzo de 2015 al 29 de febrero de 2016.
- Edad comprendida entre los 15 y 30 años
- Tener un parto o una cesárea previa
- Historia de más de una pareja sexual

Criterios de exclusión:

- Restos coriodeciduals que presentaron enfermedad trofoblástica
- Restos coriodeciduals productos de embarazo ectópico
- Restos coriodeciduals de embarazos anembrionicos
- Restos placentarios de embarazos con acretismo

Criterios de eliminación:

- Muestras que no tuvieron bloque de parafina disponible
- Bloques de parafina en mal estado
- Muestras con material insuficiente
- Restos coriodeciduales que no presentaron vellosidades coriónicas
- Restos coriodeciduales que presentaron cambios por autólisis por mala fijación

Análisis estadístico:

Se estimó la proporción de muestras infectadas por CMV y se incluyó un intervalo de confianza del 95%.

Cálculo del tamaño de la muestra:

Se requirieron N=76 muestras de la población de 82 con una confianza del 95% se estimó la frecuencia de muestras con infección por CMV, y una prevalencia de 5%, la precisión se fijó en 1% se utilizó la fórmula de la distribución binominal, por tanto se tomó como el tamaño de muestra el total de 82.

Descripción general del estudio:

1. Se recabó la información epidemiológica de todas las pacientes que enviaron muestras de aborto espontáneo al departamento de Anatomía Patológica del Hospital Civil de Culiacán en el periodo de 1 de marzo de 2015 al 29 de febrero de 2016.
2. Se seleccionaron las muestras que cumplieron con los criterios de inclusión
3. Se recolectaron todas las laminillas y bloques de parafina de los casos elegidos
4. Se revisaron las laminillas para corroborar el estado viable del tejido para realizar estudio de inmunohistoquímica
5. Se realizó estudio de inmunohistoquímica a las laminillas que contaron con tejido viable y bloque de parafina en buen estado
6. Se registraron los casos que fueron positivos para antígeno de citomegalovirus
7. Se compararon la laminilla teñida con hematoxilina y eosina con el resultado de inmunohistoquímica y se buscaron datos histológicos sugestivos de infección viral
8. Se recolectaron los resultados
9. Se analizaron los resultados

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividad	Fecha
------------------	--------------

Captación de Pacientes y recolección de datos.	01 de Marzo de 2015- 29 de Febrero del 2016
Análisis de datos de recabados e informe de avance de actividades.	01 de Marzo de 2016 – 30 de Junio de 2016
Reporte y redacción de informe terminado de protocolo de investigación	01-30 de Agosto del 2016
Entrega de Reporte Terminado.	Octubre del 2016

Definición operacional de las principales variables:

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN
Infección por citomegalovirus	Presencia de antígenos virales en las células infectadas. Puede manifestarse con cambios citopáticos (aumento de tamaño celular e inclusiones intranucleares o citoplasmáticas)	Cualitativa	Nominal
Edad	15 a 30 años	Cuantitativa	Continua
Menarca	Edad de la primera menstruación	Cuantitativa	Continua
IVSA	Edad de inicio de la vida sexual activa	Cuantitativa	Continua
Parejas Sexuales	Número de parejas sexuales	Cuantitativa	Continua
Gesta	Número de embarazos	Cuantitativa	Continua
Para	Número de partos	Cuantitativa	Continua
Abortos	Número de abortos	Cuantitativa	Continua

Cesáreas	Número de cesáreas	Cuantitativa	Continua
Semanas de gestación	Número de semanas de gestación	Cuantitativa	Continua
Inmunohistoquímica	Técnica de inmunotinción que permite demostrar una variedad de antígenos presentes en las células o tejidos utilizando anticuerpos marcados	Cualitativa	Nominal

Estandarización del instrumento de medición:

Se utilizó para el estudio histopatológico un microscopio Leica, tinción de Hematoxilina y Eosina, con los cuales cuenta el departamento de Anatomía Patológica del CIDOCS del Hospital Civil de Culiacán, se envió el material a un laboratorio externo para realizar el estudio de inmunohistoquímica, el cual utilizó el anticuerpo monoclonal anti citomegalovirus (clones 8B1.2, 1G5.2 y 2D4.2).

CAPÍTULO 7

ASPECTOS ÉTICOS

Tipo de investigación según la Ley General de Salud

Esta investigación no representa un riesgo para el paciente, según el artículo 17 de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud de nuestro país (CAPITULO I / TITULO SEGUNDO: De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos).

CAPÍTULO 8

RECURSOS Y FINANCIAMIENTO

Se involucró en el desarrollo del presente protocolo a médicos residentes de primer año de anatomía patológica, así como médico adscrito al servicio, con apoyo por parte del personal histotecnólogo. Se buscó el apoyo del Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud (CIDOCS) para cubrir el costo de los estudios de inmunohistoquímica.

CAPÍTULO 9

RESULTADOS

En el período de 1º de marzo de 2015 a 31 de octubre de 2016 se recibieron un total de 547 muestras de tejidos óvulo-placentarios en el departamento de Anatomía Patológica del Hospital Civil de Culiacán, de estas solo 82 cumplieron con los criterios de inclusión y se eliminaron 6 casos que no contaron con bloque de parafina.

En total la muestra consistió en 76 especímenes colectados de pacientes con las siguientes características: edad promedio 26.3 ± 4.2 años, inicio de la vida sexual activa de 16.7 ± 2.3 , número de parejas sexuales 2.8 ± 1.3 , gestas 3.1 ± 1.0 , partos 1.1 ± 1.1 , abortos 0.3 ± 0.5 , cesáreas 0.6 ± 0.8 y semanas de gestación 8.9 ± 1.8 (Tabla 1).

VARIABLES	MÍNIMO	MÁXIMO	MEDIA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
EDAD	16	35	26.3	4.2
IVSA	12	24	16.7	2.3
No. DE PAREJAS SEXUALES	2	9	2.8	1.3
GESTA PARA ABORTO	2	6	3.1	1.0
CESAREA	.0	4	1.1	1.1
SEMANTAS DE GESTACIÓN	.0	2	.3	.5
	.0	3	.6	.8
	5	12.5	8.9	1.8

TABLA 1. Características epidemiológicas de la población estudiada

La expresión de señal con la técnica de inmunohistoquímica se detectó como una tinción café intensa localizada en el núcleo, se utilizó un tejido control de pulmón con células infectadas para corroborar que la técnica fue adecuada.

De los 76 casos seleccionados 17 presentaron positividad con una prevalencia de infección por CMVH de 22.4 IC95% (17.8 - 42.1%) (Figura 4). En todos los casos la tinción se presentó en el núcleo de células epiteliales glandulares de la decidua. Ninguna de las células presentó cambios citopáticos y tampoco se encontró un patrón histopatológico específico asociado a la infección, como lo es la villitis crónica (Figura 5).

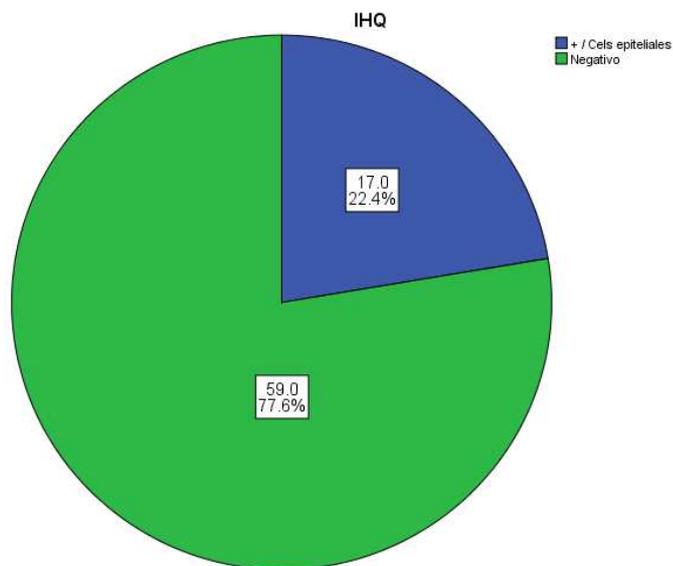


Figura 4. Prevalencia de infección por CMVH en abortos espontáneos

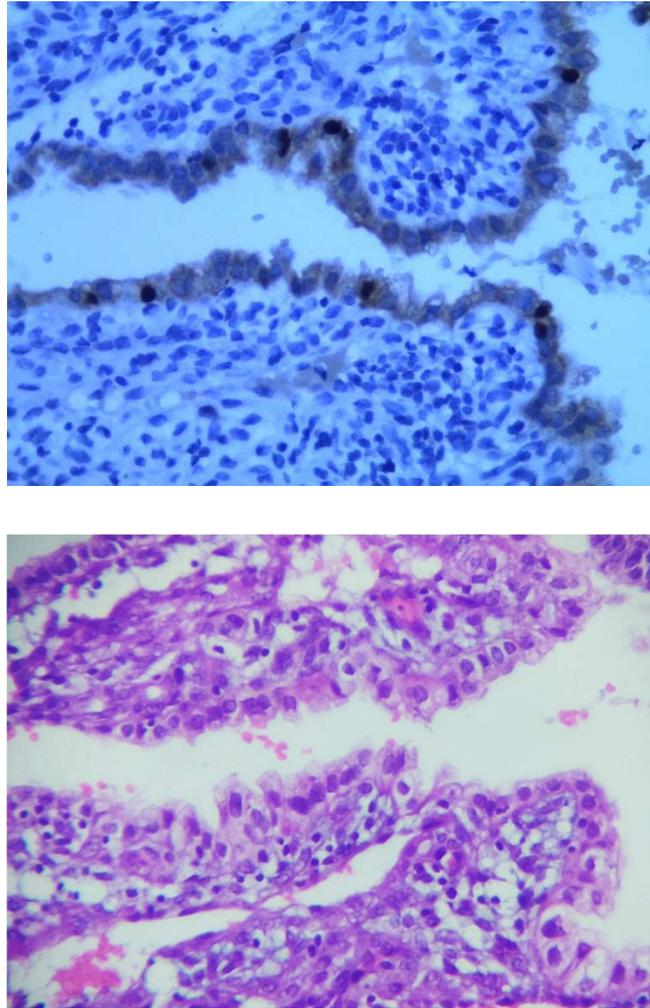


Figura 5. Células epiteliales de la decidua con expresión nuclear de antígeno de CMVH. Mismo corte teñido con hematoxilina y eosina donde no se observan cambios citopáticos.

Dentro de las características epidemiológicas de la población estudiada la edad promedio de las paciente positivas fue de 26.6 ± 4.3 , y entre los casos positivos y los negativos, no se observaron diferencias significativas entre presencia de infección por CMVH con respecto a la edad ($p=.730$), IVSA ($p=.177$) o el número de parejas sexuales ($p=.478$)(Tabla 2).

VARIABLES	POSITIVOS	NEGATIVOS	P
EDAD	26.6 ± 4.3	26.2 ± 4.2	.730
IVSA	17.4 ± 2.3	16.5 ± 2.3	.177
No. DE PAREJAS	2.6 ± 0.8	2.9 ± 1.4	.478
GESTA	2.9 ± 0.8	3.1 ± 1.0	.557
SEMANAS DE GESTACION	8.9 ± 2.2	8.9 ± 1.7	.985

TABLA 2. Comparación de las características epidemiológicas de las pacientes positivas a infección por CMV contra las negativas.

CAPÍTULO 10

DISCUSIÓN

Se sabe que el CMV es el agente etiológico más frecuente asociado a infección congénita, la cual puede cursar asintomática o como un síndrome congénito en el que se presenta pérdida auditiva neurosensorial, coriorretinitis y déficit neurológico. Otra de las manifestaciones son retraso en el crecimiento intrauterino y partos pretérmino asociados a un mal desarrollo de la placenta, como consecuencia de la infección, sin embargo el papel que juega el virus en los abortos tempranos no está bien esclarecido.

2, 32

La mayor incidencia de infección se presenta en el segundo y tercer trimestre, la escasez de abortos espontáneos en el primer trimestre asociados a CMV puede indicar que la infección es rara vez letal en el embarazo temprano. O por otro lado, también podría indicar que las secuelas de la infección son difíciles de detectar en este período gestacional. ² Por lo que la detección temprana del CMV nos abre un campo de intervención para prevenir las secuelas de la infección.

Diferentes estudios han demostrado que la infección hacia el feto ocurre desde las células infectadas del útero de la madre que al entrar en contacto con las células del citotrofoblasto invasor y de las vellosidades de anclaje, éstas quedan infectadas y permiten la replicación viral, así como la transmisión del virus de célula a célula, llegando a infectar células madre citotrofoblásticas, y después a células estromales de las vellosidades, macrófagos y endotelio vascular coriónico, con la consiguiente diseminación al feto a través de la circulación. Tal como lo reportaron Fisher et al, a través de cultivo de células de la placenta in vitro e in útero, observaron que el virus se encontraba en células del citotrofoblasto invasor y células madre del citotrofoblasto, y no en el sincitiotrofoblasto, y que este último funciona permitiendo el paso del CMV a

las células madre citotrofoblásticas subyacentes, y después adquiere la infección.

2,14,15

Por lo tanto estos estudios ponen a las células del citotrofoblasto en el papel central de la diseminación y daño en el desarrollo de la placenta, pues se ha visto en estudios *in vitro* que la infección de estas células produce una disminución en la expresión de integrina $\alpha 1\beta 2$, la cual le confiere propiedad invasiva al citotrofoblasto en la pared uterina, así como de metaloproteinasas de la matriz extracelular, con la consecuente implantación defectuosa de la placenta en la que se disminuye su superficie de anclaje al endometrio y primer tercio del miometrio materno. Además también en otros estudios se observó que las células citotrofoblásticas infectadas tienen una expresión reducida de la molécula HLA-G del complejo mayor de histocompatibilidad no clásico (MHC) de la clase Ib y de interlucina 10, necesarias para provocar tolerancia del sistema inmune materno y evitar ser atacadas por las células NK maternas. Estas células al activarse provocan mayor daño tisular. Estos hechos apoyan la participación directa del CMV en los abortos, ya que la infección activa puede quebrantar la organización del tejido placentario.¹⁵ Aunado a estos hallazgos, Spano y cols, encontraron expresión de antígeno tardío en células trofoblásticas de dos casos de abortos del primer trimestre de la gestación, el cual es un indicador de replicación viral completa, y por lo tanto podría ser una evidencia indirecta del papel que juega el virus en los abortos.¹

Sin embargo en nuestro estudio 17 de 76 casos (22.4%) fueron positivos para antígeno de CMV y éste se expresó solamente en células del epitelio glandular de la decidua, no se encontró positividad en ninguna célula del trofoblasto, lo cual podría indicar que la infección se encuentra en una etapa muy temprana y aún no ha alcanzado a infectar a las células del trofoblasto, o bien, podría ser por no tener suficiente muestra de células trofoblásticas para ser evaluadas en algunos de los casos.

Otros estudios también han reportado positividad en el epitelio de la decidua como Lijnschoten et al, quienes observaron que 34% de abortos espontáneos

presentaban positividad a CMV en el epitelio glandular de la decidua y en 44% de abortos inducidos.² Sin embargo en este estudio también encontraron un 6% de casos con trofoblasto positivo en donde 4 de 6 casos estaban localizados en la decidua.² Lo que apoya la teoría del mecanismo de transmisión del virus al feto. Spano et al, encontraron 12 de 16 casos (75%) positivos en abortos del primer trimestre en células de la decidua (no pudieron determinar si eran células epiteliales glandulares o citotrofoblásticas invasoras), en el estroma de las vellosidades y en células trofoblásticas.¹ En contraste con nuestros casos ellos si encontraron lesiones inflamatorias compatibles con infección viral en las muestras, y fueron éstas las incluidas en su estudio. Por esta razón ellos atribuyen que el alto porcentaje encontrado en sus muestras se debe a una mayor probabilidad de encontrar el virus en presencia de los cambios histológicos asociados a dicho proceso.¹

Bayati et al, utilizaron CISH e IHQ con una detección de 30% y 37.5%, respectivamente, en placentas de abortos contra un grupo control de placentas normales de parto a término en el que encontraron expresión de CMV en 5% de las muestras por IHQ y en 15% con técnica de CISH. El sitio reportado con expresión fueron las células del trofoblasto.³³

Lucio et al, realizaron amplificación por PCR en muestras de sangre y en trofoblasto placentario, encontrando infección en el 21.41% y en el 18.7% respectivamente.⁸

Dong et al, reportan 16 casos de 68 abortos del primer trimestre (23.5%) positivos para CMV por medio de PCR. Con una tasa de IgM para CMV de 5.6% por lo que es posible que haya portadores potenciales en los que no se detecta la IgM.³²

Tamiolakis et al, estudiaron con inmunohistoquímica 15 placentas de abortos espontáneos en mujeres que una vez tuvieron la infección por CMV sin evidencia serológica actual y 15 placentas de abortos inducidos con infección por CMV documentada, se observó positividad en todas las muestras localizada en las células de la decidua. Por lo que las células estromales de la decidua expresan el antígeno

asociado a CMV antes de las manifestaciones serológicas del virus y con esto ser un método útil para la detección de recurrencia viral.³⁴

Nuestros resultados podrían tener una correlación con estos estudios que apoyan la vía de transmisión desde la decidua hacia el trofoblasto, ya que en nuestros casos la positividad se presentó en las células epiteliales de la decidua.

En la revisión de las laminillas teñidas con hematoxilina y eosina de los casos que resultaron positivos para antígeno de CMVH, no encontramos ningún dato histopatológico asociado a infección, las células positivas no presentaron los cambios citopáticos característicos ni las vellosidades coriales o el espacio intervelloso tuvieron infiltrado inflamatorio de tipo linfoplasmocitario, tal como se ha mencionado en otros estudios, la inflamación linfoplasmocitaria o los cambios citopáticos pueden estar ausentes, aun cuando hay infección activa en las muestras de vellosidades del primer trimestre de gestación, debido a una inmadurez del sistema inmune fetal que le impide la formación de células plasmáticas. Aunque no se sabe a partir de que semana empieza la producción de células plasmáticas, se ha reportado dos casos en los que se ha visto que éstas empiezan a aparecer a las 14 semanas de gestación,² por lo que ésta puede ser la razón de que en las laminillas teñidas con hematoxilina y eosina, no presentara el infiltrado linfoplasmocitario pues nuestros casos comprenden de las 6 a 12 semanas de gestación, y es de esperar que no veamos esta inflamación linfoplasmocitaria característica de las infecciones virales, por lo tanto su ausencia no descarta la infección.

Debido que los cambios histológicos son más floridos conforme avanza la infección, sería interesante estudiar las placentas a término para hacer una evaluación y correlación histológica, y de esta manera tener la posibilidad de informar a los médicos tratantes sobre la presencia de la infección para que los pacientes tengan un seguimiento a largo plazo, pues aunque algunos de los neonatos sean asintomáticos, éstos pueden tener secuelas en un futuro, principalmente pérdida de la audición la cual se refleja en dificultades del habla y con una intervención temprana se podrían disminuir sus consecuencias.

La prevalencia de la infección en mujeres embarazadas de nuestra población se encuentra dentro del rango reportado por los estudios previamente mencionados. No encontramos diferencias significativas entre la edad, el inicio de relaciones sexuales, número de parejas sexuales, número de embarazos o abortos, así como tampoco de las semanas de gestación entre las pacientes positivas al antígeno de CMVH y las negativas, como lo reportan Chandler y cols., quienes encontraron que todos estos factores incrementan el riesgo de presentar la infección.⁴ Sin embargo, nuestro estudio utilizó estos parámetros para la selección de la muestra, por lo que tanto las mujeres positivas como las negativas, tienen características similares.

A pesar que la infección primaria es la que tiene mayor riesgo de transmisión al feto y la que peores secuelas tiene en los infantes, en nuestro estudio no es posible determinar si la infección es primaria o recurrente. Sin embargo, de acuerdo a las características epidemiológicas que presentan nuestras pacientes, éstas tienen más probabilidades de presentar una recurrencia de infección por CMVH más una infección primaria, ya que las mujeres que no han tenido estos factores de riesgo de exposición previa al virus antes del embarazo es de suponer que son más vulnerables a la infección primaria.⁴ Para fines de este estudio se buscó tener la mayor cantidad de muestras con posibilidades de ser positivas para determinar el papel del virus en el proceso de aborto y para encontrar patrones histopatológicos que nos ayuden a identificar la infección en casos posteriores.

Sin embargo, debido a la alta prevalencia del CMVH, la infección recurrente es la que se presenta con mayor frecuencia, y estudios recientes han demostrado que una reinfección dada por una cepa diferente de CMVH puede tener los mismos resultados que una infección primaria.⁵

Para hacer una adecuada correlación con las características epidemiológicas sería necesario hacer un estudio diseñado para tales fines.

CAPÍTULO 11

CONCLUSIONES

La prevalencia de infección en mujeres embarazadas en el primer trimestre de gestación de nuestra población se encuentra dentro del rango reportado en estudios previos. No encontramos diferencias significativas entre la edad, inicio de relaciones sexuales, número de parejas sexuales, número de embarazos o abortos, así como tampoco entre las semanas de gestación de las pacientes que presentaron el antígeno de CMVH.

No encontramos cambios histopatológicos característicos de infección por CMVH, por lo que no es posible asociar la presencia del virus al proceso de aborto

Encontramos positividad en células epiteliales de la decidua, el cual podría ser el primer paso hacia la transmisión del CMVH al feto, por lo que es necesaria más investigación sobre las acciones que se podrían hacer en esta etapa para prevenir la transmisión vertical.

Actualmente no se cuenta con programas de prevención o detección oportuna, basados en que no hay un tratamiento eficaz de la infección por CMVH para los neonatos, sin embargo es importante tener en cuenta los factores de riesgo para una infección primaria en las pacientes embarazadas o que planean embarazarse e informar sobre los riesgos de contraer la infección durante el embarazo y con esto fomentar las medidas higiénicas necesarias.

En pacientes con riesgo alto de infección primaria por CMVH durante el embarazo, el estudio de la placenta a término es importante porque es cuando más floridos están los cambios histológicos asociados a la infección, y esto contribuye a dar un mejor seguimiento de los pacientes a corto y largo plazo, pues aunque 90% de los neonatos estén asintomáticos al nacimiento, 10-15% presentarán secuelas a largo plazo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Spano LC, Lima PF, Gomes da Silva BN, Mercon VP. Human cytomegalovirus infection and abortion: an immunohistochemical study. *Med Sci Monit.* 2002; 8(6): 230-235
2. Lijnschoten G, et al. The presence of cytomegalovirus antigens in karyotyped abortions. *AJRI.* 1994;32: 211-220
3. Rosai J, Ackerman. *Patología quirúrgica.* 10a edición. Venezuela. Amolca. 2013, Vol. 2, p 1647-1648
4. Chandler AH, Alexander ER, Holmes KK. Epidemiology of cytomegaloviral infection in a heterogenous population of pregnant women. *J Infect Dis.* 1985;152(2):249-256
5. Yamamoto AY, et al. Human cytomegalovirus reinfection is associated with intrauterine transmission in a highly cytomegalovirus-immune maternal population. *Am J Obstet Gynecol.* 2010; 202-297.e1-8
6. Gaj Z, et al. Decrease in 3-nitrotyrosine in the amniotic fluid of women with cytomegalovirus infection. *J Obstet Gynaecol.* 2014; 34 (3): 251-254
7. Akhter K, Wills TS, Talavera F, King JW, Bronze MS. Cytomegalovirus. Disponible en <http://www.emedicine.medscape.com/article/215702-overview#a5> Consultado: 26-julio-2015
8. Lucio MP, et al. Frecuencia de citomegalovirus humano asociado a abortos. *Rev Mex Pediatr.* 2009; 76(3): 113-116
9. Kradin RL. *Diagnostic Pathology of Infectious Disease.* 1st ed. Philadelphia; Saunders. 2010, p 13
10. Baquero AF. Citomegalovirus congénito: ¿es necesario un cribado serológico durante el embarazo? *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010; 28(6): 363-369
11. Revello MG, Gerna G. Diagnosis and Management of Human Cytomegalovirus Infection in the Mother, Fetus and Newborn Infant. *Clin Microbiol Rev.* 2002; 15(4): 680-715
12. Prevención, diagnóstico y tratamiento de la infección por citomegalovirus en la edad pediátrica. México: Instituto Mexicano del Seguro Social, 2013

13. Collier AC, et al. Cytomegalovirus infection in women attending a sexually transmitted disease clinic. *JID*. 1990; 162: 46-51
14. Weisblum Y, et al. Modeling of human cytomegalovirus maternal-fetal transmission in a novel decidual organ culture. *J Virol*. 2011; 85 (24): 13204-13213
15. Fisher S, Genbacev O, Maidji E, Pereira L. Human cytomegalovirus infection of placental cytotrophoblasts in vitro and in utero: implications for transmission and pathogenesis. *J Virol*. 2000; 74: 6808-6820
16. Prevención, diagnóstico y tratamiento de la infección por citomegalovirus en la edad pediátrica. Guía de práctica clínica. México, DF. 2012
17. Faro S, Soper DE. Enfermedades Infecciosas en la Mujer. 1ª edición. México DF. McGraw-Hill Interamericana. 2002, p 93-95
18. Khalf MS, Ahmad DW, Ibraheem KA. The seroprevalence of IgM among Iraqi aborted women infected with human cytomegalovirus. *The Iraqi Postgraduate Medical Journal*. 2012; 11(1): 123-129
19. Ozgu EA, Sen C. Diagnosis of congenital cytomegalovirus antigenemia by immunohistochemical detection of immediate early antigen. *Fetal and Pediatric Pathology*. 2014; 33: 64-70
20. Murayama T, et al. Detection of Human Cytomegalovirus in Amniotic Fluid and Villous Tissues. *Journal of Experimental and Clinical Merdicine*. 2010; 2(5): 224-30.
21. Chemaly RF, et al. Correlation between viral loads of cytomegalovirus in blood and bronchoalveolar lavage specimens from lung transplant recipients determined by histology and immunohistochemistry. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004; 42(5): 2168-2172
22. Sinzger C, et al. Cell types infected in human cytomegalovirus placentitis identified by immunohistochemical double staining. *Virchows Archiv A Pathol Anat*. 1993; 423: 249-256
23. Schwartz DA, Khan R, Stoll B. Characterization of the fetal inflammatory response to cytomegalovirus placentitis. *Arch Pathol Lab Med*. 1992; 116: 21-27

24. Altshuler G. Immunologic competence of the immature human fetus. Morphologic evidence from intrauterine cytomegalovirus infection. *Obstet Gynaecol.* 1974; 43: 811-816
25. Crum CP, Lee KR. *Diagnostic Gynecologic and Obstetric Pathology.* 2a edición. Philadelphia. Saunders. 2011, p 1068-1074
26. Eyzaguirre E, Haque AK. Application of Immunohistochemistry to Infections. *Arch Pathol Lab Med.* 2008; 132: 424-1
27. www.faeditorial.es/capitulos/anatomía-patológica-MANUAL-7.pdf
28. De Marchi AZ, et al. Immunohistochemical and in situ detection of cytomegalovirus in lung autopsies of children immunocompromised by secondary interstitial pneumonia. *Pathology Research and Practice.* 2004; 25–32
29. Lu DY, Qian J, Easley KA, Waldrop SM, Cohen C. Automated in situ hybridization and immunohistochemistry for cytomegalovirus detection in paraffin-embedded tissue sections. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2009 Mar;17(2):158-64
30. Vinay K, Abdul A, Nelson F, Aster J. *Patología estructural y funcional.* 8th edición. Barcelona. 2010; p 351-372
31. Revello MG, et al. Prevention of Primary Cytomegalovirus Infection in Pregnancy. *EBioMedicine.* 2015; 2: 1205–1210
32. Dong ZW, Yan C, Yi W, Cui YQ. Detection of congenital cytomegalovirus infection by using chorionic villi of the early pregnancy and polymerase chain reaction. *Int J Gynecol Obstet.* 1994; 44: 229-231.
33. Bayati AH, et al. Detection of cytomegalovirus and Epstein Barra virus in placental tissues of aborted wome. *Biomed & Pharmacol J.* 2017; 10 (1): 221-229
34. Tamiolakis D, et al. Human decidual cells activity in women with spontaneous abortions of probable CMV aetiology during the first trimester of gestation: an immunohistochemical study with CMV-associated antigen. *Acta Médica.* 2004; 47 (3): 195-199