

Frecuencia de infección por citomegalovirus asociado a abortos

Dinorah Maritza Bátiz-Salazar^{1*}, Cesilia Garnica-Núñez², Efrén Rafael Ríos-Burgueño³, Edgar Dehesa-López⁴, Felipe de Jesús Perez-Garay⁵

¹ Residente de Tercer Grado de Anatomía Patológica

² Anatomopatóloga y Citopatóloga adscrita al servicio de Anatomía Patológica

³ Jefe del Departamento y de Enseñanza de Anatomía Patológica

⁴ Nefrólogo adscrito al servicio de Medicina Interna

⁵ Doctor en ciencias con orientación en probabilidad y estadística, responsable del área de bioestadística

Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Sinaloa y Hospital Civil de Culiacán.

DOI <http://dx.doi.org/10.28960/revmeduas.2007-8013.v8.n3.003>

Recibido 14 Marzo 2018, aceptado 25 Mayo 2018

RESUMEN

OBJETIVOS. Determinar la frecuencia de infección por citomegalovirus a través de inmunohistoquímica en restos óvulo-placentarios de 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 de restos óvulo-placentarios 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 prevalencia de infección por CMVH en mujeres embarazadas en el primer trimestre de gestación de nuestra población se encuentra dentro del rango reportado en estudios previos. 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.

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

ABSTRACT

OBJECTIVES. To determine the frequency of cytomegalovirus infection through immunohistochemistry on sections of ovuloplacental tissue of the first trimester of gestation, spontaneous abortions, the association with the abortion process 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 one year. Immunohistochemistry was performed in sections of ovuloplacental tissue 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 prevalence of HCMV infection in pregnant women in the first trimester of pregnancy of our population is within the range reported in previous studies. We did not find histopathological changes characteristic of CMVH infection, so it is not possible to associate the presence of the virus with the abortion process. We found positivity in epithelial cells of the decidua, which could be the first step towards the transmission of HCMV to the fetus, so more research is needed on the actions that could be done at this stage to prevent vertical transmission.

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

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 retra-

so 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

*Correspondencia: Dra. Dinorah Maritza Bátiz Salazar R3AP, dinorahbatiz@hotmail.com. Eustaquio Buelna No. 91, Colonia Gabriel Leyva, C.P. 80030, Culiacán, Sinaloa.

Los factores etiológicos son muchos. Más de la mitad son debidos a anormalidades 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 hematológica 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 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.⁴

En Estados Unidos 3%-12% de las mujeres embarazadas presenta una infección activa, ésta se puede observar tras una nueva infección o por una recurrencia⁵. La infección primaria se encuen-

tra 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 virus⁶. 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.⁷

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.

Nuestro objetivo es determinar la frecuencia de infección por citomegalovirus a través de inmunohistoquímica en restos óvulo-placentarios de abortos espontáneos del primer trimestre de la gestación, su asociación al aborto y correlación de los hallazgos histopatológicos.

Material y métodos

Se realizó un estudio descriptivo, ambispectivo, transversal en el que 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 durante el periodo del 1 de marzo de 2015 al 29 de febrero de 2016. Se incluyeron muestras de pacientes con edades comprendidas entre los 15 y 30 años, antecedente de un parto o cesárea previa e historia de más de una pareja sexual. A los bloques de parafina de tejidos óvulo-placentarios seleccionados se les realizó estudio de inmunohistoquímica utilizando un anticuerpo monoclonal contra antígenos temprano inmediato (IEA) y tardío (LA) clones 8B1.2, 1G5.2 y 2D4.2. Se interpretaron como positivos los casos que presentan células con tinción nuclear. Se estimó la proporción de muestras infectadas por CMV y se incluyó un intervalo de confianza del 95%.

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).

TABLA 1. Características epidemiológicas de la población estudiada. IVSA: Inicio de Vida Sexual Activa.

VARIABLES	MÍNIMO	MÁXIMO	MEDIA	DE
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	2	6	3.1	1.0
ABORTO	.0	4	1.1	1.1
CESÁREA	.0	2	.3	.5
SEMANAS DE GESTACIÓN	.0	3	.6	.8
	5	12.5	8.9	1.8

DE = Desviación Estándar

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 1). En todos los casos la tinción se presentó en el núcleo de células epiteliales glandulares de la deci-

dua. 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 2).

Figura 1. Prevalencia de infección por CMVH en abortos espontáneos

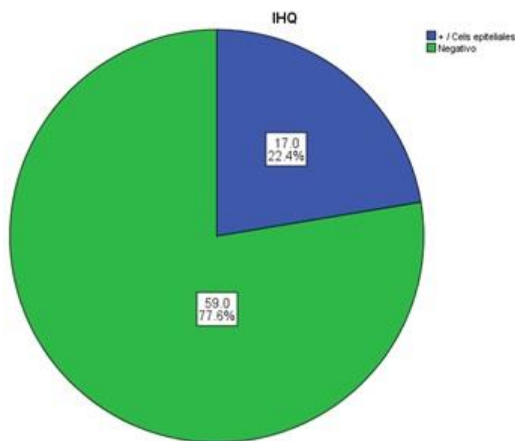
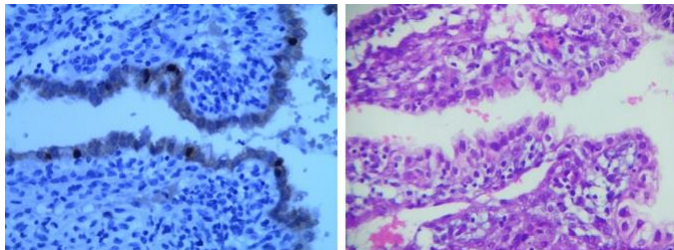


Figura 2. Células epiteliales de la decidua con expresión nuclear de antígeno de CMVH. Mismo corte teñido con hematoxilina y eosina donde no se observan cambios citopáticos.



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).

TABLA 2. Estadísticas de grupo

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

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.^{2,8}

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 y

cols., 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 CMVH a las células madre citotrofoblásticas subyacentes, y después adquiere la infección.^{2,9,10}

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 (Natural Killer) 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.¹⁰ 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 y cols., 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 y cols., 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 célu-

las trofoblásticas.¹ En contraste con nuestros casos ellos sí 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 y cols., 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.¹¹

Lucio y cols., realizaron amplificación por PCR en muestras de sangre y en trofoblasto placentario, encontrando infección en el 21.41% y en el 18.7% respectivamente.¹²

Dong y cols., 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.⁸

Tamiolakis y cols., estudiaron mediante 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.¹³

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 intervilloso 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 qué 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.

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.⁵ 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.⁵ 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.⁶

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

Conclusiones

La prevalencia de infección por CMVH 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.

Referencias

- Spano LC, Lima PFE, Gomes da Silva BN, Mercon de Vargas PR. Human cytomegalovirus infection and abortion: an immunohistochemical study. *Med Sci Monit.* 2002; 8(6): 230-235
- Lijnschoten G, Stals F, Evers JLH, Bruggeman CA, Havenith MH, Geraedts JPM. The presence of cytomegalovirus antigens in karyotyped abortions. *AJRI.* 1994;32: 211-220
- Rosai J, Ackerman. *Patología quirúrgica.* 10ª Ed. Venezuela:Amolca; 2013: Vol. 2: p 1647-1648
- Prevención, diagnóstico y tratamiento de la infección por citomegalovirus en la edad pediátrica. México: Instituto Mexicano del Seguro Social, 2013
- Chandler AH, Alexander ER, Holmes KK. Epidemiology of cytomegaloviral infection in a heterogeneous population of pregnant women. *J Infect Dis.* 1985;152(2):249-256
- Yamamoto AY, Mussi-Pinhata MM, Boppana SB, Novak Z, Wagatsuma VM, Frizzo-Oliveira P, et al. Human cytomegalovirus reinfection is associated with intrauterine transmission in a highly cytomegalovirus-immune maternal population. *Am J Obstet Gynecol.* 2010; 202(3): 202-297.
- Gaj Z, Wilczynski J, Nowakowska-Glab A, Boakye-Agyeman F, Paradowska E, Lesnikowski ZJ, et al. Decrease in 3-nitrotyrosine in the amniotic fluid of women with cytomegalovirus infection. *J Obstet Gynaecol.* 2014; 34 (3): 251-254
- 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.
- Weisblum Y, Panet A, Zakay-Rones Z, Haimov-Kochman R, Goldman-Whol D, Ariel I, et al. Modeling of human cytomegalovirus maternal-fetal transmission in a novel decidual organ culture. *J Virol.* 2011; 85 (24): 13204-13213
- 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(15)74: 6808-6820
- Bayati AH, J.AL-BayaaY, Alwan SN, Al-Karkhi II. Detection of cytomegalovirus and Epstein Barra virus in placental tissues of aborted women. *Bio-med & Pharmacol J.* 2017; 10 (1): 221-229
- Lucio MPF, Valdés ERA, Martínez SSG, López CJ, Gómez RHB, Aguilar ALM. Frecuencia de citomegalovirus humano asociado a abortos. *Rev Mex Pediatr.* 2009; 76(3): 113-116
- Tamiolakis D, Venizelos I, Lambropoulou M, Kotini A, Barbagadaki S, Nikolaidou S, 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