

U. A. N. L.

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES**



**ESTUDIO COMPARATIVO DE ALTERACIONES
HISTOQUIMICAS EN PLACENTAS A TERMINO DE
MUJERES DIABETICAS Y MUJERES NORMALES**

**TESIS QUE EN OPCION AL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA

DRA. BEATRIZ GONZALEZ DE PEREA

MONTERREY, N. L.

MARZO DE 1983

TM

Z665

FM

1983

G6



1020071145

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA

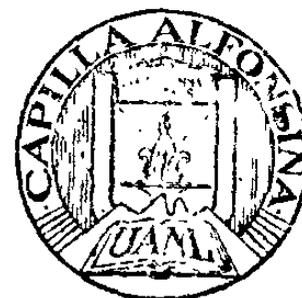
DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES

"ESTUDIO COMPARATIVO DE ALTERACIONES HISTOQUIMICAS EN PLACENTAS A -
TERMINO DE MUJERES DIABETICAS Y MUJERES NORMALES"

TESIS QUE EN OPCION AL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

DRA. BEATRIZ GONZALEZ DE PEREA



80654

MONTERREY, N.L.

MARZO DE 1983.

DEPARTAMENTO DE HISTOLOGIA, DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVER-
SIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON.

ASESOR: DRA. NORMA Y. MEZA CARDENAS

A MIS HIJOS

Inspiración en todo momento.

A MIS PADRES

Apoyo moral incondicional.

AL RECUERDO DE MI ESPOSO

Etapa importante de mi vida.

A la persona que creyó en mi y me dió la oportunidad que buscaba.

Dr. Alfredo Piñeyro López.

A todas las personas que me ayudaron en la elaboración de este trabajo, - en especial a mi asesora.

Dra. Norma Y. Meza Cárdenas.

INTRODUCCION

El embarazo de una mujer con diabetes mellitus es considerado como de alto riesgo por los problemas que ésta situación trae consigo en la mayoría de los casos. Se citan además de la morbilidad materna (8),- la morbilidad neonatal manifestada por disturbios respiratorios, taquipnea del recién nacido, hipocalemia, hiperbilirrubinemia, hipoglicemia, macrosomia, anomalías congénitas mayores como el síndrome de regresión caudal (18), hasta muerte fetal intrauterina ó muerte del neonato. El polihidramnios es frecuente en estos casos, asociado a labor prematura de parto ó muerte fetal. Estas pacientes requieren de un control estricto de su diabetes durante la gestación, en algunos casos está indicada la interrupción del embarazo tan pronto como se considere maduro - el producto (38-39 semanas). En todas las variedades de las diabetes -- (insulinodependientes, no dependientes y gestacionales) se presentan estas complicaciones; pero sin duda de particular importancia en cualquier caso es el de requerir un estricto control ya que en caso contrario no sólo es una situación de alto riesgo, sino fatal generalmente.

La placenta, órgano de vital importancia para el nuevo ser, lleva a cabo un grupo de funciones muy importantes y complejas que podrían verse perturbadas ó modificadas con el disturbio metabólico que aqueja a la madre e influir de alguna manera en el desarrollo del feto. Originada -- del trofoblasto del blastocisto (19) tiene un genotipo diferente a la madre y por ésto es considerada por algunos autores, como un injerto (22). Principia a funcionar con la implantación del huevo en el útero, erosionando el endometrio progestacional, asociándose a él con uniones desmosó

micas (3) y procurando comunicarse con la circulación materna desde los primeros días de la gestación. Sintetiza y metaboliza hormonas que vierte a la circulación materna y fetal, transfiere oxígeno y bióxido de carbono y en forma selectiva aminoácidos, carbohidratos y lípidos; también transporta vitaminas y minerales, modula el paso de fármacos, anticuerpos y desde luego agua, por medio de diferentes mecanismos de transporte (8).

Teniendo en cuenta la participación de la placenta en las funciones enumeradas y las observaciones que existen de alteraciones funcionales sistémicas y vasculares severas en varios órganos en pacientes diabéticas, se intentó investigar si la placenta participaba en las alteraciones morfológicas y fisiológicas ó permanecía inmune.

Se utilizaron varias técnicas de histoquímica enzimática y no-enzimática. Estas nos permitieron correlacionar estructura y función y así estudiar las posibles alteraciones que pudieran presentar las placentas diabéticas comparadas con las normales.

REVISION DE LITERATURA

Hasta ahora se han hecho estudios histoquímicos en placentas, pero desde puntos de vista diferentes al nuestro y con otros fines (5,6,7, 9,10,14,15,20,21). La histopatología de la placenta diabética también ha sido muy estudiada y discutida por infinidad de investigadores durante muchos años (8). Se menciona que existen alteraciones en el sincitio y - en el citotrofoblasto, en el estroma de las vellosidades, en el espacio intervelloso y en el sistema vascular fetal, que son más ó menos constantes en placentas de mujeres diabéticas, pero de ninguna manera constituyen un patrón que las caracterice como tales, ya que las mismas pueden - encontrarse en placentas con otro tipo de patología. En todo caso habría que cuantificarlas para tratar de reunir las y formar un molde en que ubi-car la histopatología característica de la placenta diabética. También - hay un acuerdo en que los hallazgos histopatológicos no siempre guardan relación con la situación clínica de la madre ni del recién nacido. Reunimos un grupo de técnicas de histoquímica enzimática y no-enzimática - con el fin de buscar alguna diferencia entre placentas diabéticas y nor-males demostrable por éstos métodos.

Basados en descripciones histológicas clásicas (1) recordamos que la placenta consta de una porción fetal, la placa corial con los troncos de las vellosidades. Estos troncos se ramifican en vellosidades secundarias y terciarias formando los cotiledones. La placa corial del lado fetal cubierta por el amnios contiene tejido conectivo por donde cruzan - las ramas radiales de las dos arterias y una vena del cordón, cada tronco y cada vellosidad secundaria y terciaria cuentan con ramas de éstos--

vasos umbilicales y con su red capilar correspondiente. La porción uterina de la placenta es la decidua basal en forma de una placa que envía prolongaciones a manera de cuñas entre cotiledón y cotiledón. El sincitiotrofoblasto cubre las vellosidades, las células del citotrofoblasto por debajo del sincitio son escasas en la placenta a término, lo mismo que las células de Hofbauer consideradas como macrófagos (14). La red capilar de las vellosidades es la encargada de formar la membrana de intercambio entre la sangre materna y la fetal. En la placenta a término estos capilares se acercan al máximo al epitelio sincitial estableciéndose esta membrana de intercambio con el endotelio capilar, la membrana basal y el citoplasma sincitial.

En el presente estudio se escogieron entre las técnicas histoquímicas las siguientes:

- 1.- La fosfatasa alcalina, porque probablemente se encuentre asociada con la absorción de componentes fosforilados en las microvellosidades del citoplasma sincitial y con su paso a través de la barrera placentaria.
- 2.- La fosfatasa ácida, como una de las enzimas lisosomales que participan en las actividades de digestión de éstos organelos y es posible que en este caso de la placenta, esté involucrada en la transferencia de metabolitos.
- 3.- Las estererasas inespecíficas, con el fin de buscar el grado de actividad de esta enzima del grupo de las hidrolasas en el tejido

placentario.

4.- La adenosintrifosfatasa, que escinde el ATP produciendo difosfato y fosfato liberando energía aprovechable probablemente en los procesos de transporte activo a través de la membrana de intercambio.

5.- La monoaminoxidasa, como flavoproteína de la membrana externa de la mitocondria que cataliza la oxidación de diversas aminas, para la demostración de las mitocondrias.

6.- La peroxidasa, para determinar el grado de actividad de esta enzima en los tejidos placentarios.

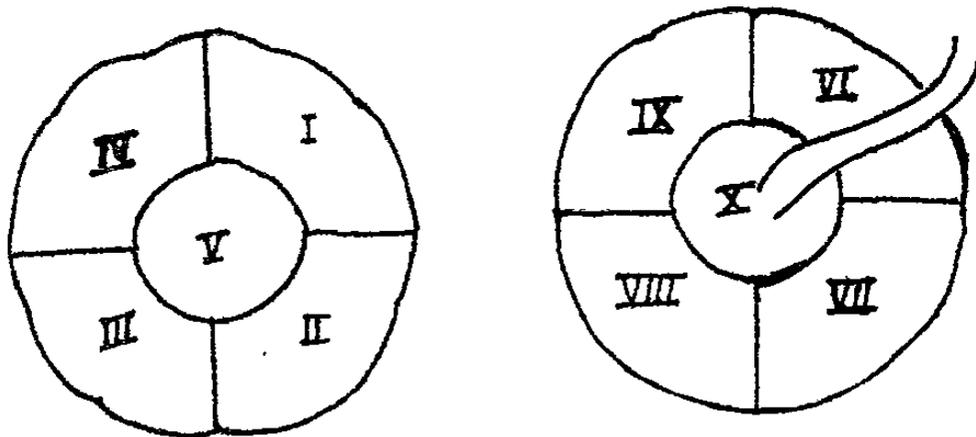
Las técnicas de histoquímica no-enzimática llevaron como fin observar lo siguiente:

- a) Las membranas basales de los vasos sanguíneos y del epitelio de las vellosidades.
- b) Las fibras elásticas en las paredes de los vasos sanguíneos y en el estroma de las vellosidades.
- c) Determinar la presencia de ribonucleoproteínas citoplásmicas.
- d) La presencia ó ausencia de depósitos amiloides.
- e) Depósitos de glucógeno y su localización.
- f) Células argirófilas neurosecretoras en los tejidos placentarios.

MATERIAL Y METODOS

Durante la primer etapa de la investigación se estudiaron 10 placentas a término de mujeres sin padecimientos intercurrentes con el embarazo, con el objeto de establecer parámetros de normalidad y contar con puntos de comparación para la segunda etapa de este estudio. Se obtuvieron del Departamento de Gineco-obstetricia del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González". Se recogieron en un tiempo máximo de 2 horas a partir del alumbramiento, ya que la actividad enzimática que se buscaría en ellas desaparece del tejido si éste no es refrigerado a 10°C en ese plazo y congelando enseguida. Se anotaron datos de cada paciente como edad, paridad, peso del producto, peso de la placenta (índice feto-placentario) y dimensiones de ésta. Se inspeccionó la cara materna observando el aspecto de los cotiledones, coloración, consistencia, presencia de infartos, situación y porcentaje del daño. En la cara fetal se observó la coloración, la presencia de meconio, la implantación del cordón y su aspecto.

Se dividieron las placentas para su muestreo, según el siguiente esquema en diez zonas.



De cada una de las zonas se tomaron 3 muestras de 1 cm. por lado, de las cuáles una se fijó en formalina al 10%, otra en alcohol etílico-absoluto y una tercera se reservó para congelarla. La primera y la segunda muestras permanecieron en el fijador por un tiempo mínimo de 24 horas antes de pasarlas al Histoquinette donde serían deshidratadas e incluidas en parafina. La tercera muestra se congeló por el método de "quenching" que combina el isopentano y el nitrógeno líquido en el proceso, a una temperatura de - 90°C durante 8 segundos. Se cortaron en el criostato (damon/IEC Division) en secciones de 4 micras, se montaron en portaobjetos y se conservaron en el mismo criostato hasta el momento de llevar a cabo las técnicas de histoquímica enzimática. Con las muestras procesadas en el Histoquinette se formaron bloques de parafina que se cortaron en el microtomo de Minott en secciones de 4-5 micras que se montaron en portaobjetos, se desparafinaron en la estufa quedando preparados para el desarrollo de las diferentes técnicas de coloración no-enzimática. En cada muestra se enfocó la atención al estudio del sincitio, citotrofoblasto, estroma de las vellosidades, espacio intervelloso y sistema vascular. El estudio enzimológico de las placentas normales se efectuó - mediante los métodos siguientes:

- 1.- Fosfatasa Alcalina: según el método de Burstone (2).
- 2.- Fosfatasa Acida: según el método de Burstone (2).
- 3.- Esterasas Inespecíficas: según el método de Burstone (2).
- 4.- Adenosintrifosfatasa: por el método de Wachstein y Meissel - (modificado) (2).

- 5.- Monoaminooxidasa: por el método de Glenner y Cols. (2).
- 6.- Peroxidasa: por el método de Straus, W.J. (2).
- 7.- Técnica del ácido Peryódico de Schiff: para membranas basales (11).
- 8.- Técnica de Verhoeff: para fibras elásticas (11).
- 9.- Técnica de Verde Metil Pironina: para ribonucleoproteínas (16).
- 10.- Técnica del Rojo Congo: con microscopía de polarización para amiloide (17).
- 11.- Técnica del Carmín de Best: para glucógeno (11).
- 12.- Técnica de Grimelius: para células argirófilas (12).

Junto con cada preparación se procesaron tejidos testigos de humano y de rata.

La segunda etapa de este trabajo consistió en el estudio de 20 - placentas a término de mujeres con diabetes mellitus recolectadas en el Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" y en otras maternidades de la ciudad de Monterrey, N.L.. En este grupo se incluyeron diabéticas dependientes de la insulina, diabéticas no-dependientes de la insulina así como mujeres que manifestaron su diabetes simultáneamente con el embarazo. De este modo este segundo grupo constó de 3 sub-grupos: D1= siete diabéticas dependientes de la insulina, D2= cinco diabéticas no--dependientes de la insulina y D3= ocho diabéticas gestacionales.

El procedimiento a seguir fué el mismo de la primera etapa con - las placentas normales.

Después de una observación detallada y cuidadosa al microscopio de luz (Zeiss) se procedió a una evaluación del grado de positividad por medio de cruces. Esta positividad correspondió a la intensidad de la coloración que indica la presencia de la actividad enzimática ó bien a la cantidad de elementos que nos dieron positiva la reacción como fué el caso de las técnicas para glucógeno, fibras elásticas, ribonucleoproteínas y células argirófilas. Con la técnica del ácido peryódico de Schiff se llevó a cabo una medición de las membranas basales con el micrómetro ocular por medio de un estudio doble ciego.

Los resultados obtenidos en el grupo control y en los grupos de diabéticas recibieron un tratamiento estadístico por medio de la prueba de la χ^2 para buscar una posible diferencia. Véase apéndice estadístico.

Se tomaron fotomicrografías de los resultados positivos en un Fotomicroscopio (Zeiss).

RESULTADOS

La imagen histológica que encontramos en todas las laminillas estudiadas es la de vellosidades primarias, secundarias y terciarias seccionadas en diferentes ángulos. El estroma de las vellosidades primarias tiene tejido conectivo con fibras de colágena y elásticas, así como tejido muscular liso; la proporción de los dos últimos componentes disminuye gradualmente hasta desaparecer, de modo que las vellosidades más pequeñas contienen en su estroma sólo delgadas fibras de colágena. En general las vellosidades se encuentran cubiertas por el sincitiotrofoblasto adelgazado e irregular. En las pequeñas vellosidades este epitelio en unión con la pared de los capilares se encontraba formando las membranas de intercambio. Las células deciduales que constituyen la contribución uterina a la placenta son más abundantes obviamente en la cara materna y escasas en la fetal.

Sobre este patrón histológico se asientan los resultados observados en el mismo orden del capítulo anterior.

1.- Fosfatasa Alcalina: Se encontró actividad de esta enzima en el borde libre del epitelio sincitial de todas las vellosidades corroborando los datos de Curzen (5-6). (Fig.1). Actividad que varió de moderada a intensa independientemente de la zona muestreada ó de la cara de la placenta considerada. Estos resultados fueron los mismos para las placentas normales y para los tres sub-grupos de diabéticas.

2.- Fosfatasa Acida: Con esta técnica se observó actividad enzimática en el citoplasma sincitial en todas las vellosidades primarias, se

cundarias y terminales, confirmando lo encontrado por Curzen (5-6). -- (Fig.2). Variando su actividad de escasa a moderada e intensa en ocasiones. En estos resultados tampoco influyó el origen de la muestra en cuanto a cara placentaria ó zona. Las placentas diabéticas de los tres grupos nos dieron resultados semejantes al grupo de las normales.

3.- Esterasas Inespecíficas: Reacción negativa en todas las placentas examinadas.

4.- Adenosintrifosfatasa: Se encontraron dificultades en la técnica que no permitieron obtener datos confiables.

5.- Monoaminooxidasas: Tanto las placentas normales como las diabéticas mostraron actividad enzimática con esta técnica. Como se observa en las figuras 3 y 4, la actividad se localizó en el citoplasma sincitial de todas las vellosidades y en el citoplasma de las células deciduales. La intensidad en ambos sitios fué considerada de moderada a intensa sin relación con una zona ó cara placentaria en particular.

6.- Peroxidasa: No se encontró actividad de esta enzima en los tejidos estudiados.

7.- Acido Peryódico de Schiff: En la tabla No.1 se pueden consultar los porcentajes de las medidas en micras de las membranas basales,

y observar que no se encontró diferencia de un grupo a otro. (Fig.5).

Los depósitos de fibrina PAS + abundantes en las placentas en este período de la gestación, fueron más notorios en la cara fetal, pero su frecuencia no varió en relación al carácter de placenta diabética ó normal. Las zonas de necrosis fibrinoide PAS + presentes se encontraron con la misma frecuencia en los 4 grupos de placentas independientemente de la zona ó cara considerada.

8.- Técnica de Verhoeff: Las fibras elásticas encontradas en el estroma de las vellosidades grandes fueron ligeramente más abundantes que en las medianas (Fig.6). En las paredes musculares de los vasos de mediano calibre y arteriolas se observó la lámina elástica interna en proporciones normales. No se encontraron diferencias en cantidad ni en la distribución de las fibras elásticas en las diferentes zonas ó caras de las placentas normales en relación con los sub-grupos de las diabéticas.

9.- Técnica Verde Metil Pironina: Se encontró positividad en pequeñas áreas del citoplasma sincitial y en el citoplasma de las células deciduales como se aprecia en las figuras 7 y 8, en cualquier zona de la placenta observada tanto en ambas caras así como en todos los grupos.

10.- Técnica del Rojo Congo: Las preparaciones se observaron con microscopio de luz polarizada y no se encontró refringencia verde caracte-

terística de los depósitos de amiloide con esta reacción. Todas las preparaciones fueron negativas.

11.- Técnica del Carmín de Best: Se observaron depósitos de glucógeno en el estroma de las grandes, medianas y aún pequeñas vellosidades (Fig.9), correspondiente a depósitos dentro de las células musculares lisas y de los fibroblastos. En las células musculares lisas de las paredes de los vasos se encontraron cantidades variables lo mismo que en el citoplasma de las células de la decidua (Fig.10). La cantidad de estos depósitos varió de una placenta a otra sin guardar relación con su carácter de placenta diabética ó normal.

12.- Impregnación Argéntica de Grimelius: Se encontraron gránulos argirófilos dentro del citoplasma de las células de la decidua (Fig.11). La distribución de las células es como ya se mencionó anteriormente, en la cara materna en forma predominante, sin embargo fué posible identificarlas también en la cara fetal. La cantidad de gránulos varió de una zona a otra y de una placenta a otra independientemente de su procedencia normal ó diabética.

Los datos obtenidos con las técnicas en cada uno de los grupos problema se compararon con el grupo control. Se procesaron estadísticamente no encontrándose diferencia significativa en ningún caso. Véase apéndice estadístico.

P L A C E N T A S		1.6 micras	3.2 micras	4.8 micras
	Normales	96.1 %	3.7 %	0.2 %
	D 1	95.428 %	4.428 %	0.142 %
	D 2	96.8 %	3.2 %	0 %
	D 3	96.875 %	3 %	0.125 %

Tabla No.1 = Porcentajes de las medidas en micras de las membranas basales en los grupos de diabéticas y en el grupo control.

- Fig.1 Fotomicrografía de un corte de las vellosidades pequeñas y medianas de la placenta. Se aprecia la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina en el borde libre. Sección de 4 micras en el criostato. (16 X).
- Fig.2 Fotomicrografía de un corte de las vellosidades pequeñas y medianas de la placenta. Se observa actividad enzimática de la fosfatasa ácida en forma de granulaciones en el citoplasma sin cital. Sección de 4 micras en el criostato. (16 X).
- Fig.3 Fotomicrografía de un corte de las vellosidades pequeñas y medianas de la placenta. Se observa actividad enzimática de la monoaminooxidasa en el citoplasma sincital. Sección de 4 micras en el criostato. (16 X).
- Fig.4 Fotomicrografía de un corte de placenta. Donde se observan cél las deciduales con actividad enzimática de monoaminooxidasa en el citoplasma. Sección de 4 micras en el criostato.(16 X).
- Fig.5 Fotomicrografía de un corte de las vellosidades medianas y pequeñas de la placenta. Teñidas con la técnica del ácido peryódico de Schiff para observar las membranas basales como indican las flechas. Sección de 4 micras. Inclusión en parafina. (16 X).
- Fig.6 Fotomicrografía de un corte de las vellosidades placentarias me dianas. Técnica de Verhoeff para observar las fibras elásticas en el estroma. Sección de 3-4 micras. Inclusión en parafina. (16 X).

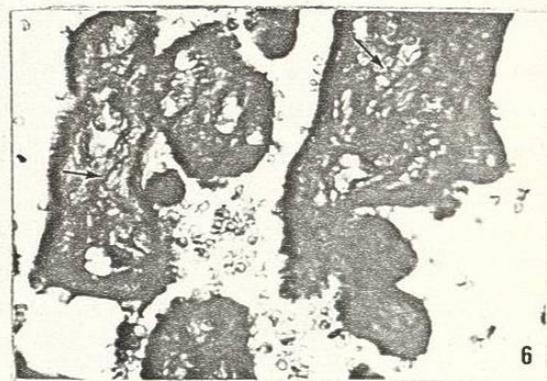
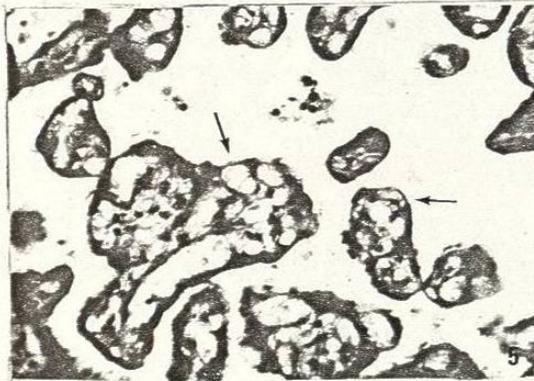
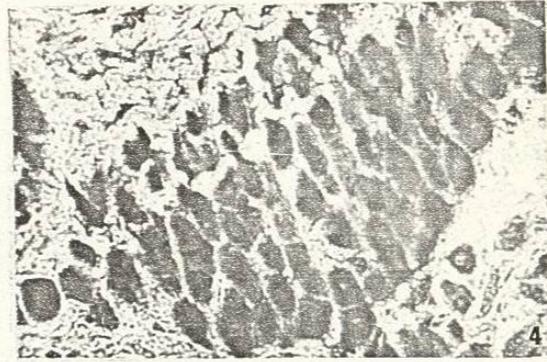
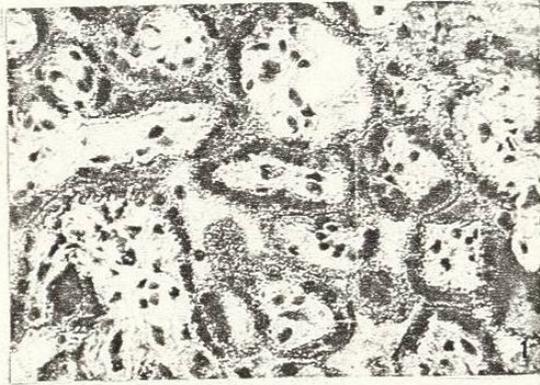


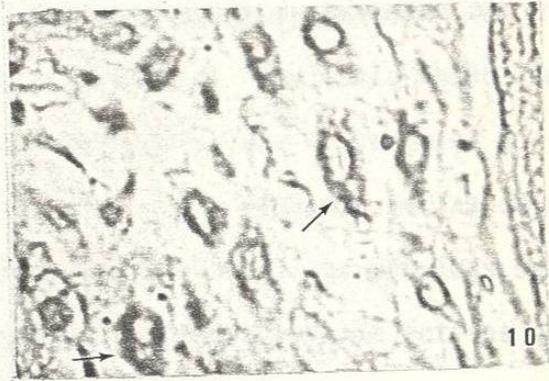
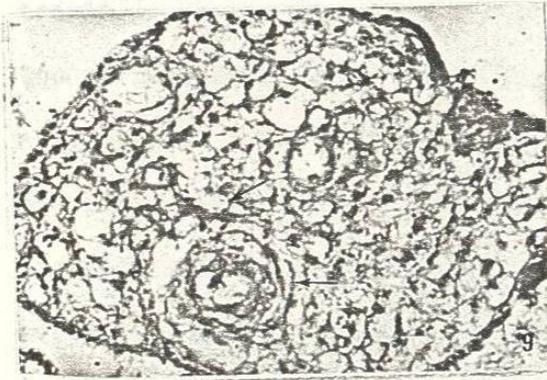
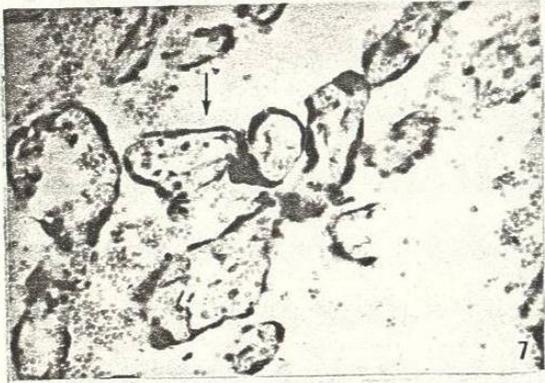
Fig.7 Fotomicrografía de un corte de vellosidades placentarias medianas y pequeñas. Técnica de Verde Metil Pironina. Se aprecian pequeñas áreas (indicadas con flechas) del citoplasma sincitial con positividad a la pironina. Sección de 4 micras. Inclusión en parafina. (16 X).

Fig.8 Fotomicrografía de un corte de placenta. Técnica de Verde Metil Pironina. Se aprecia una marcada positividad a la Pironina en el citoplasma de las células deciduales. Sección de 4 micras. Inclusión en parafina. (16 X).

Fig.9 Fotomicrografía de un corte de placenta. Técnica de Carmín de Best. Se observa una vellosidad mediana con depósito de glucógeno en las células del estroma. Sección de 4 micras. Inclusión en parafina. (16 X).

Fig.10 Fotomicrografía de un corte de placenta. Técnica de Carmín de Best. Se observan depósitos de glucógeno en el citoplasma de las células deciduales. Sección de 4 micras. Inclusión en parafina. (16 X).

Fig.11 Fotomicrografía de un corte de placenta. Técnica de Grimelius. Se observan gránulos argirófilos en el citoplasma de las células deciduales. Sección de 4 micras. Inclusión en parafina. (16 X).



DISCUSION Y CONCLUSIONES

Las técnicas histoquímicas utilizadas en este trabajo vienen a confirmar algunas de las hipótesis que planteamos en su inicio con relación a las actividades enzimáticas y la fisiología de la placenta normal. La actividad de la fosfatasa alcalina en el borde libre de las vellosidades estuvo presente en todas las muestras y esto hace suponer que se encuentra involucrada en la transferencia de metabolitos como ocurre en forma semejante en el epitelio intestinal (1). La actividad de la fosfatasa -ácida en el epitelio sincitial nos confirma su participación en la actividad degradativa de los lisosomas, facilitando el paso de moléculas a través de la barrera placentaria. La monoaminoxidasa, marcadora de mitocondrias nos las hace patentes en el citoplasma sincitial, hecho que no sorprende dada la intensa actividad metabólica que tiene lugar en -- ese sitio. Esta misma enzima fué positiva en el citoplasma de las células deciduales y este dato junto con otros que nos dieron técnicas subsecuentes, muestra a estas células como elementos sumamente activos desde el punto de vista metabólico.

El grosor de las membranas basales observadas con la técnica del ácido peryódico de Schiff, fué variable en las placentas normales. Se citan posibles causas de su engrosamiento en las diabéticas en otros - órganos (8). Sin embargo en este estudio las variaciones en grosor no son significativas comparadas con el grupo control.

Aunque el borde libre de todas las vellosidades parece ser útil para transferencia, es posible que la mayor parte de esta actividad -

se lleve a cabo en las más pequeñas ó terminales ya que son las más numerosas ofreciendo una superficie más amplia. El estroma conectivo de éstas últimas es sumamente laxo y carece de fibras elásticas y probablemente ésto facilite el intercambio de metabolitos con los vasos sanguíneos.

La técnica de verde metil pironina, positiva en pequeñas areas del citoplasma sincitial pone de manifiesto los sitios del sincitio que contienen ribonucleoproteína (22), que puede estar en forma de ribosomas libres ó de retículo endoplásmico rugoso encargados de la síntesis de polipéptidos, algunos con acción hormonal. Los sitios más estrechos carentes de organelos forman las membranas de intercambio. Esta técnica nos mostró positividad marcada a la pironina en el citoplasma de las células deciduales, colocándolas entre las de intensa actividad en cuanto a síntesis de proteínas se refiere.

Los depósitos de glucógeno encontrados en el estroma de las vellosidades, en las células musculares lisas de las paredes de los vasos y en el citoplasma de las células deciduales variaron en cantidad en las placentas. Se piensa que una posible causa de esta variabilidad pudiera ser el estado nutricional de la mujer, sin embargo ésto requerirá de otros estudios para su confirmación experimental.

La argirofilia encontrada en las células deciduales nos indica su posible relación con la presencia de células neurosecretoras encontradas

en diferentes sitios del organismo.

El disturbio metabólico que representa la diabetes mellitus y los problemas de morbilidad y mortalidad que significan para la mujer embarazada y para el producto, no se manifiestan en cambios en la actividad enzimática ni en los componentes celulares ó intercelulares de los tejidos placentarios demostrables por las técnicas histoquímicas utilizadas en este trabajo, como se comprobó con el estudio estadístico.

Sin embargo no se podría concluir que este órgano permanece ajeno al padecimiento, sin efectuar antes otras técnicas de histoquímica enzimática y no-enzimática con el fin de ampliar este estudio.

RESUMEN

Se llevó a cabo un estudio comparativo de placentas a término - de mujeres normales y de mujeres diabéticas con las siguientes técnicas de histoquímica enzimática: Fosfatasa Alcalina, Fosfatasa Acida, Esterasas Inespecíficas, Monoaminoxidasa y Peroxidasa; y no-enzimáticas: Acido Peryódico de Schiff, Verhoeff, Verde Metil Pironina, Rojo Congo, Carmín de Best y Grimelius.

En los resultados obtenidos con estas técnicas se buscaron cambios entre las placentas normales y las diabéticas que establecieran diferencias que nos permitiesen elaborar una hipótesis sobre la participación de la placenta dentro de este desorden metabólico. Tanto en la apreciación que se hizo de la intensidad de las reacciones observadas en el microscopio de luz, como en las pruebas estadísticas aplicadas (Véase apéndice estadístico) no se encontraron diferencias significativas entre los grupos estudiados.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Bargmann, W.: *Histología y Anatomía Microscópica Humanas*, ESPAXS, 4a. edición, p.p. 627, 1981.
- 2.- Benitez, B.L.: *Histoquímica, Manual Práctico*. p.p. 95,96,97,99,100,107,108,115,117, 1980.
- 3.- Bloom, H. and Fawcett, D.W.: *Tratado de Histología*, Editorial Labor, S.A. - España 7a. edición, p.p. 897-902, 1978.
- 4.- Cottrand, R.: *Pathologic Basis of Disease*, W.B. Saunders Company, p.p. 327-343, 1979.
- 5.- Curzen, P. M.D., B.Sc. M.R.C.O.G.: "A Histochemical Investigation of the Concept of Placental Insufficiency" *The Journal of Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth.* 74:385-400, 1967.
- 6.- Curzen, P.B.Sc., M.D., M.R.C.O.G.: "Variations in the Enzyme Histochemistry of the Placenta". *The Journal of Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth.* 71:388-399, 1964.
- 7.- Dolezalova, V. and Vecerek, B.: "Alkaline Phosphatase Activity in Placenta of small for date babies" *Zbl. Gynak.*, 91:12-22, 4 Jan 1969.
- 8.- Fox, H.: *Pathology of Placenta*, Vol. VIII in, : *The Series "Major Problems in Pathology"*, W.B. Saunders Company. p.p. 38-48, 149-169, 1978.
- 9.- Fox, H. and Kharkongor, H.F.: "Enzyme Histochemistry of Hofbauer's Cells in Human Placenta". *The Journal of Obst. and Gynaec of the - Brit Cwlth.* 76:918, 1969.

- 10.- Fox, H. and Kharkongor, H.F.: "Effect of Hypoxia on Enzyme Histochemistry of Placental Villi Maintained in Organ Culture". The Journal of Obst. and Gynecol. of the Brit. Cwlth. 77:526-530, 1970.
- 11.- Gridley, M.F.: Manual of Histologic and Special Staining Technics. Mc.Graw - Hill Book Company, Inc. United States of America. 2a. Ed. 1960.
- 12.- Grimelius, L.: "A Silver nitrate stain for alfa cells in human pancreatic islets". Acta Soc. Med. Upsalien, 73:243-270, 1968.
- 13.- Kitsmille, J. y Cols.: "Diabetic Pregnancy and Perinatal Morbidity". Am. J. Obst. and Gynecol. 131-5, 560-573, 1973.
- 14.- Krauer, F.: "Enzyme content in Hofbauer's cells in human placenta and their functional significance". Gynecologia (Basel), 167:171-184, Mar. 1969.
- 15.- Krauer, F. and Ludwig, K.S.: "Histochemical investigation of enzymes in fetal vessels in placenta at term". Gynecologia, 166:162-173, - Feb. 1968,
- 16.- Lillie, R.D. and Fullmer, H.M.: Histopathologic Tecnic and Practical Histochemistry, MC.Graw Hill Book, 4a. edición, p.p. 177-178, 1976.
- 17.- Mc.Manus, J.F.A. y Cols.: Staining Methods Histologic and Histochemical. Paul B. Hoeber Inc. p.p. 150, 1960.
- 18.- Mills, J. y Cols.: "Malformations in Infants of Diabetic Mothers - Occurr before the Seventh Gestational Weeks" Diabetes, 28:292-293, 1973.
- 19.- Moore, K.: Embriología Clínica. Interamericana 1a. edición, p.p. 30 1975.

- 20.- Robinson, H.P. y cols.: "The Effect of the Pulsed and continuous wave ultrasound on the Enzyme Histochemistry of the Placental Tissue in vitro" The J. Obst. and Gynec. Brit. Cwlth. 79:821-827, 1972.
- 21.- Szekeley, J.A. and Hahn, V.: "Studies of enzymatic activities in human placenta during normal and abnormal pregnancies". Zbl. Gynak., 91, 305-315, Mar. 1969.
- 22.- Weiss, L.: Histology, Mc.Graw - Hill Inc., 4a. edición.
p.p. 967, 1977.

A N A L I S I S

E S T A D I S T I C O . -

	++	++ - +++	+++	TOTAL
Normales	4	3	3	10
D 1	5	2	0	7
D 2	5	0	0	5
D 3	5	2	1	8
TOTAL	19	7	4	30

	++	++ - +++	+++	TOTAL
Normales	6.33	2.33	1.33	10
D 1	4.43	1.63	0.93	7
D 2	3.17	1.17	0.66	5
D 3	5.07	1.87	1.07	8
TOTAL	19	7	4	30

$$D = 7.136$$

$$\chi^2 = 16.812$$

Actividad enzimática de la fosfatasa alcalina en cara materna y fetal en los grupos estudiados.

	+	+ - ++	++	+++	TOTAL
Normales.	1	3	4	1	10
D 1	0	0	5	1	7
D 2	0	0	4	0	5
D 3	0	0	7	0	8
TOTAL	1	3	20	2	30

	+	+ - ++	++	+++	TOTAL
Normales.	0.33	1	6.67	0.67	10
D 1	0.23	0.7	4.67	0.47	7
D 2	0.16	0.5	3.33	0.33	5
D 3	0.26	0.8	5.33	0.53	8
TOTAL	1	3	20	2	30

$$D = 11.634$$

$$\chi^2 = 23.217$$

Actividad enzimática de la fosfatasa ácida en cara materna y cara fetal en los grupos estudiados.

	++	++ - +++	+++	TOTAL
Normales	1	1	8	10
D 1	2	1	4	7
D 2	2	1	2	5
D 3	0	1	7	8
TOTAL	5	4	21	30

	++	++ - +++	+++	TOTAL
Normales	1.67	1.33	7	10
D 1	1.17	0.93	4.9	7
D 2	0.83	0.67	3.5	5
D 3	1.33	1.07	5.6	8
TOTAL	5	4	21	30

$$D = 5.393$$

$$\chi^2 = 16.842$$

Actividad enzimática de la Monoaminoxidasa en cara materna y cara fetal en los distintos grupos estudiados.

	1.6	3.2	4.8	Total
Normales	959	37	4	1000
D 1	668	31	1	700
D 2	484	16	-	500
D 3	775	24	1	800
Total	2886	108	6	3000

	1.6	3.2	4.8	Total
Normales	962.0	36.0	2.0	1000
D 1	673.4	25.2	1.4	700
D 2	481.0	18.0	1.0	500
D 3	769.6	28.8	1.6	800
Total	2886.0	108.0	6.0	3000

$$D = 5.4065$$

$$\chi^2 = 16.82$$

Medidas en micras de las membranas basales en los distintos grupos de placentas.

	0	+	0 - +	Total
Normal	3	3	3	9
D 1	2	3	2	7
D 2	0	2	3	5
D 3	3	2	2	7
Total	8	10	10	28

	0	+	0 - +	Total
Normal	2.57	3.21	3.21	9
D 1	2	2.5	2.5	7
D 2	1.43	1.78	1.78	5
D 3	2	2.5	2.5	7
Total	8	10	10	28

$$D = 3.29$$

$$\chi^2 = 16.812$$

Fibras elásticas en las paredes de los vasos medianos de la cara fetal.

	0 - +	+	+--+	Total
Normales	5	5	0	10
D 1	3	4	0	7
D 2	1	3	1	5
D 3	1	6	0	7
Total	10	18	1	29

	0 - +	+	+--+	Total
Normales	3.45	6.21	0.34	10
D 1	2.41	4.34	0.24	7
D 2	1.72	3.10	0.17	5
D 3	2.41	4.34	0.24	7
Total	10	18	1	29

$$D = 7.74$$

$$\chi^2 = 16.812$$

Fibras elásticas en el estroma de las Velloidades medianas y grandes en la cara materna.

	0 - +	+	Total
Normales	5	5	10
D 1	3	4	7
D 2	1	4	5
D 3	2	5	7
Total	11	18	29

	0 - +	+	Total
Normales	3.79	6.21	10
D 1	2.6	4.34	7
D 2	1.9	3.10	5
D 3	2.65	4.34	7
Total	11	18	29

$$D = 1.657$$

$$\chi^2 = 11.341$$

Fibras elásticas en las paredes de los Vasos Medianos de la cara materna.

	0 - +	+	+ - ++	Total
Normales	4	5	0	9
D 1	0	6	0	6
D 2	0	5	0	5
D 3	3	3	1	7
Total	7	19	1	27

	0 - +	+	+ - ++	Total
Normales	2.33	6.33	0.33	9
D 1	1.55	4.22	0.22	6
D 2	1.3	3.52	0.18	5
D 3	1.81	4.92	0.26	7
Total	7	19	1	27

$$D = 10.07$$

$$\chi^2 = 16.812$$

Fibras elásticas en el estroma de las Velloidades medianas y grandes de la cara fetal.

	0 - +	+	++	TOTAL
Normales	0	2	8	10
D 1	1	5	1	7
D 2	1	2	2	5
D 3	2	3	3	8
TOTAL	4	12	14	30

	0 - +	+	++	TOTAL
Normales	1.33	4.00	4.67	10
D 1	0.93	2.80	3.27	7
D 2	0.67	2.00	2.33	5
D 3	1.07	3.20	3.73	8
TOTAL	4	12	14	30

$$D = 9.709$$

$$\chi^2 = 16.812$$

Ribonucleoproteínas en el citoplasma sincitial de la -
cara materna.

	0 - +	+	++	TOTAL
Normales	0	5	5	10
D 1	1	6	0	7
D 2	1	2	2	5
D 3	2	4	2	8
TOTAL	4	17	9	30

	0 - +	+	++	TOTAL
Normales	1.33	5.67	3.00	10
D 1	0.93	3.97	2.10	7
D 2	0.67	2.83	1.50	5
D 3	1.07	4.53	2.40	8
TOTAL	4	17	9	30

$$D = 7.437$$

$$\chi^2 = 16.812$$

Ribonucleoproteínas en el citoplasma sincitial de la -
cara fetal.

	0 - +	+	++	TOTAL
Normales	0	5	5	10
D 1	1	6	0	7
D 2	1	2	2	5
D 3	2	4	2	8
TOTAL	4	17	9	30

	0 - +	+	++	TOTAL
Normales	1.33	5.67	3.0	10
D 1	0.93	3.97	2.1	7
D 2	0.67	2.83	1.5	5
D 3	1.07	4.53	2.4	8
TOTAL	4	17	9	30

$$D = 7.432$$

$$\chi^2 = 16.812$$

Ribonucleoproteínas en el citoplasma de las células deciduales.

	0	+	++	Total
Normales.	0	10	0	10
D 1	0	5	2	7
D 2	0	3	2	5
D 3	2	6	0	8
Total	2	24	4	30

	0	+	++	Total
Normales.	0.67	8.0	1.33	10
D 1	0.47	5.6	0.93	7
D 2	0.33	4.0	0.67	5
D 3	0.53	6.4	1.07	8
Total	2	24	4	30

$$D = 12.657$$

$$\chi^2 = 16.812$$

Almacén de glucógeno en las células musculares lisas de las paredes de los vasos sanguíneos.

	0	0-+	+	+--+	++-+++	++	+++	Total
Normales.	0	0	3	2	0	5	0	10
D 1	0	0	2	0	0	4	1	7
D 2	1	1	0	0	0	3	0	5
D 3	0	0	2	0	0	6	0	8
Total	1	1	7	2	0	18	1	30

	0	0-1	+	+--+	++-+++	++	+++	Total
Normales.	.33	.33	2.33	0.67	0	6.0	0.33	10
D 1	.23	.23	1.63	0.47	0	4.2	0.23	7
D 2	.17	.17	1.17	0.33	0	3.0	0.17	5
D 3	.27	.27	1.87	0.53	0	4.8	0.27	8
Total	1	1	7	2	0	18	1	30

$$D = 19.01$$

$$\chi^2 = 30.578$$

Depósito de glucógeno en el estroma de las Vellosidades Medianas y Grandes de la cara materna.

	0	0-+	+	+ - ++	++	++ - +++	Total
Normales.	3	2	5	0	0	0	10
D 1	2	2	3	0	0	0	7
D 2	3	1	1	0	0	0	5
D 3	3	2	3	0	0	0	8
Total	11	7	12	0	0	0	30

	0	0-+	+	+ - ++	++	++ - +++	Total
Normales.	3.67	2.33	4.00	0	0	0	10
D 1	2.57	1.67	2.80	0	0	0	7
D 2	1.83	1.17	2.00	0	0	0	5
D 3	2.93	1.87	3.20	0	0	0	8
Total	11	7	12	0	0	0	30

$$D = 1.938$$

$$\chi^2 = 16.812$$

Depósito de glucógeno en el estroma de las vellosidades pequeñas de la cara materna.

	0	+	++	+--+	Total
Normales	0	1	7	2	10
D 1	0	3	4	0	7
D 2	1	1	3	0	5
D 3	0	2	6	0	8
Total	1	7	20	2	30

	0	+	++	+--+	Total
Normales	0.33	2.33	6.67	0.67	10
D 1	0.23	1.63	4.67	0.47	7
D 2	0.17	1.17	3.33	0.33	5
D 3	0.27	1.87	5.33	0.53	8
Total	1	7	20	2	30

$$D = 11.026$$

$$\chi^2 = 21.666$$

Depósito de glucógeno en el estroma de las Vellosidades Medianas y Grandes, cara fetal.

	0	0 - +	+	Total
Normales	8	1	1	10
D 1	6	0	1	7
D 2	5	0	0	5
D 3	5	1	2	8
Total	24	2	4	30

	0	0 - +	+	Total
Normales	8.0	0.67	1.33	10
D 1	5.6	0.47	0.93	7
D 2	4.0	0.33	0.67	5
D 3	6.4	0.53	1.07	8
Total	24	2	4	30

$$D = 3.529$$

$$\chi^2 = 16.812$$

Depósitos de glucógeno en el estroma de las Vellosidades Pequeñas de la cara fetal.

	0	0-+	+	++	Total
Normales	0	0	10	0	10
D 1	0	1	3	3	7
D 2	0	1	4	0	5
D 3	1	0	7	0	8
Total	1	2	24	3	30

	0	0-+	+	++	Total
Normales	0.33	0.67	8.0	1.0	10
D 1	0.23	0.47	5.6	0.7	7
D 2	0.17	0.33	4.0	0.5	5
D 3	0.27	0.53	6.4	0.3	8
Total	1	2	24	3	30

$$D = 17.48$$

$$\chi^2 = 21.666$$

Depósito de glucógeno en el citoplasma de las Células Deciduales.

	+	++	TOTAL
Normales	4	6	10
D 1	4	3	7
D 2	3	2	5
D 3	4	4	8
TOTAL	15	15	30

	+	++	TOTAL
Normales	5.0	5.0	10
D 1	3.5	3.5	7
D 2	2.5	2.5	5
D 3	4.0	4.0	8
TOTAL	15	15	30

$$D = 0.742$$

$$\chi^2 = 11.341$$

Células Argirófilas en la cara materna.

	0	+	++	TOTAL
Normales	3	5	2	10
D 1	4	3	0	7
D 2	2	2	1	5
D 3	2	5	1	8
TOTAL	11	15	4	30

	0	+	++	TOTAL
Normales	3.67	5.0	1.33	10
D 1	2.57	3.5	0.93	7
D 2	1.83	2.5	0.67	5
D 3	2.93	4.0	1.07	8
TOTAL	11	15	4	30

$$D = 3.086$$

$$\chi^2 = 16.812$$

Células Argirófilas en la cara fetal.

