



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE MEDICINA
HOSPITAL GENERAL DE CHOLULA

GRADO DE EXPRESIÓN DE KI-67 Y CAMBIOS HISTOLÓGICOS EN PLACENTAS DE MUJERES CON ENFERMEDAD HIPERTENSIVA DURANTE LA GESTACIÓN

TESIS DE POSGRADO
Presentada para obtener el título de:
ESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

PRESENTA:
Dra. Alejandra Robles Salmán

ASESORES EXPERTOS:
Dr. Rogelio Castillo Luna
Dra. Georgina Loyola Rodríguez

ASESOR METODOLÓGICO:
Dr. Alejandro Gaspar Vera

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico a mi familia, que siempre ha estado a mi lado y me ha enseñado lo que es el amor, la paciencia y la dedicación.

A mis padres:

Gracias por darme la fuerza necesaria para cumplir mis sueños y que a pesar de que para eso fuera necesario estar lejos de ustedes siempre me demostraron todo su amor y apoyo.

A mis hermanos:

Quienes han sido mi inspiración para mejorar cada día.

A mis sobrinos:

Por darme esa chispa de alegría y fuerza que se necesita para llegar mas alto.

A mis compañeros de residencia:

Por ser mi familia estos cuatro años, por las horas de desvelo y la enseñanza que llevamos de la mano. En especial a Héctor Yerena, por ser un increíble amigo, ejemplo de dedicación y esfuerzo, por enseñarme que se debe entregar todo el corazón para lograr nuestras metas, sin ti no fue lo mismo y aun que no estés aquí físicamente te llevamos en el corazón en este último paso de nuestra residencia.

A mis maestros:

Por entregar su tiempo , paciencia y dedicación en nuestra enseñanza.

Gracias a todos.

TABLA DE CONTENIDOS

Resumen	4
Justificación	5
Marco teórico	7
Objetivos	21
Material y métodos	22
Lugar y duración	24
Universo	24
Criterios de selección	25
Definición operacional de las variables	26
Resultados	29
Discusión	39
Conclusiones	43

RESUMEN

Introducción

La enfermedad hipertensiva en el embarazo constituye una de las principales causas de mortalidad materno fetal a nivel mundial, provoca 70,000 muertes maternas y 500,000 muertes fetales al año.

Una de las teorías más aceptadas sobre la fisiopatología habla sobre una mala implantación placentaria, que condiciona hipoxia e isquemia, asociado a disfunción del endotelio materno, predisposición inmunogenética y una inapropiada respuesta inflamatoria. La placenta es el registro más preciso de la experiencia prenatal y refleja el estado intrauterino y el resultado fetal postnatal.

El marcador Ki-67, es un marcador de proliferación celular que se usa para determinar el índice mitótico.

Objetivos

Determinar el grado de expresión del marcador Ki-67 en las placentas de pacientes con enfermedad hipertensiva durante la gestación.

Material y métodos

Estudio longitudinal, observacional descriptivo/analítico ambispectivo, en el cual se analizaron a 17 pacientes.

Clasificadas con los criterios de ACOG, se recabó información materno fetal, y se obtuvieron las placentas al nacimiento. Revisión inicial con técnica de hematoxilina-eosina, evaluando cambios característicos como hiperplasia del trofoblasto, hiperplasia vellosa, vasculopatía decidual e infartos. Realizando reacciones de inmunoperoxidasa con antígeno Ki-67 para evaluar el porcentaje de expresión.

Resultados

Se realizó la comparación de las patologías placentarias según la clasificación de los estados hipertensivos, encontrando una asociación estadísticamente significativa con la vasculopatía decidual ($p=0.018$). Se presentó expresión de Ki-67 significativa en el 50% de las mujeres con preeclampsia con criterios de severidad y 25% de las pacientes con Sx. de HELLP.

Conclusiones Se encontró una correlación positiva débil, es decir, a mayor gravedad del cuadro habrá una mayor expresión de Ki-67 ($Rho = 0.208$), sin embargo, esta correlación no mostró ser estadísticamente significativa. (limitado por número de pacientes por pandemia Covid-19).

Palabras clave: ACOG: *American College of Obstetricians and Gynecologists*.

2. JUSTIFICACIÓN

La enfermedad hipertensiva en el embarazo es una complicación muy común en nuestra población, aumentando de forma impresionante el riesgo de complicaciones materno fetales, tanto a corto como a largo plazo. Este padecimiento constituye una de las principales causas de mortalidad materna y fetal a nivel mundial y se ha estimado que del 2-8% de todos los embarazos se complican con preeclampsia.⁽¹⁾ A nivel mundial provoca 70,000 muertes maternas y 500, 000 muertes fetales al año.⁽²⁾ En países en vías de desarrollo, como lo es el nuestro, se ha calculado que esta enfermedad constituye una de las principales causas de muerte materna, llegando casi al 26%.⁽³⁾

Existen muchas teorías que intentan explicar la causa de esta enfermedad, una de las teorías mas aceptadas nos habla sobre una mala implantación placentaria, que condiciona hipoxia e isquemia, asociado a disfunción del endotelio materno, predisposición inmunogenética y una inapropiada respuesta inflamatoria.⁽⁴⁾

En pacientes con embarazo normoevolutivo, que no presentarán preeclampsia, el trofoblasto extraveloso invade la capa muscular de las arterias espirales. Esta remodelación arterial produce transformación de las arterias uteroplacentarias a vasos de alto flujo y baja resistencia. En la preeclampsia, la invasión incompleta del trofoblasto en las arterias espirales maternas, se observa como proliferación de trofoblastos no invasores con múltiples núcleos en el espacio intersticial, arterias espirales de paredes gruesas, trombosis y placas de ateroma en la luz.⁽²⁾ Debido a la mala remodelación arterial, se produce hipoxia, con esto isquemia, provocando estrés oxidativo en la placenta, liberación de radicales libres, alteración en la liberación de citocinas y factores de crecimiento, así como la activación de leucocitos y macrófagos.⁽⁵⁾

Se dice que las placentas de las pacientes con enfermedad hipertensiva en el embarazo son mas pequeñas de lo esperado, y el peso placentario y fetal, al igual están por debajo de rangos de normalidad esperados por la edad gestacional. Uno de los

hallazgos más reportados en los estudios histológicos de estas placentas son los infartos, dados por una mala circulación intervillositaria.⁽⁶⁾

Es poco el estudio que hay sobre la proliferación de las vellosidades del trofoblasto en este síndrome, mucho menos estudiado en nuestra población mexicana. El Ki67, es un marcador de proliferación que se encuentra en núcleo de las células que están proliferando, normalmente utilizado para medir el índice mitótico y clasificación tumoral.⁽⁷⁾

En este estudio examinamos los cambios histológicos en las placentas de pacientes que cursaron con enfermedad hipertensiva durante la gestación, y el nivel de expresión del marcador Ki-67 en las mismas, buscando comparar el porcentaje de expresión de este marcador en los diferentes estadios de la enfermedad según su severidad.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 DEFINICIÓN: HIPERTENSIÓN Y EMBARAZO

Dentro de este padecimiento se agrupan varias formas de presentación, en las que llevan en común la presentación de hipertensión durante el embarazo, unas de ellas siendo mas graves que otras, con ciertos datos que son de gran interés para el médico al momento del diagnóstico, para decidir el momento adecuado para la resolución obstétrica, así como la vía de resolución.

Hipertensión se define como la presencia de una tensión arterial sistólica mayor o igual a 140 mmHg y/o una tensión arterial diastólica mayor o igual a 90mmHg, por lo menos en dos tomas, con 4 horas de diferencia, después de las 20 semanas de gestación.⁽⁸⁾

Dependiendo de la presencia de otros síntomas y signos se clasificará el estado hipertensivo de la paciente y se decidirá el seguimiento y manejo mas apropiado.

3.2 CLASIFICACIÓN DE LOS ESTADOS HIPERTENSIVOS EN EL EMBARAZO

- Hipertensión gestacional

Presión arterial sistólica igual o mayor de 140 mmHg, o una presión arterial diastólica igual o mayor de 90 mmHg, o ambas, por lo menos en dos tomas, con 4 horas de diferencia, después de las 20 semanas de gestación, en una paciente con presión arterial previamente normal, en ausencia de proteinuria o datos de severidad. Presión arterial vuelve a la normalidad en el periodo post-parto.⁽⁹⁾

Más del 50% de las embarazadas con hipertensión gestacional progresará a preeclampsia con proteinuria o algún otro dato de daño a órgano blanco, siendo mas común cuando se diagnostica antes de la semana 32 de gestación.⁽¹⁰⁾

- Hipertensión crónica

Previamente diagnosticada, antes de la semana 20 de gestación o hasta la semana sexta del postparto, asociado o no a proteinuria.⁽³⁾

- Preeclampsia

Es un desorden del embarazo que se asocia con una nueva aparición de hipertensión, que ocurre normalmente después de las 20 semanas de gestación, frecuentemente cerca del término. Aun que frecuentemente se asocie con la nueva aparición de proteinuria, puede encontrarse hipertensión con otros signos o síntomas de preeclampsia, en la ausencia de proteinuria.⁽⁴⁾

Cifras tensionales iguales o arriba de 140/90 mmHg, proteinuria mayor a 300mg/24 hrs. Creatinina sérica elevada (>30 mg/mmol.) después de la semana 20 de gestación, o hasta dos semanas postparto.⁽³⁾

- Preeclampsia con datos de severidad: Cifras tensionales mayor o igual a 160/110 mmHg y síntomas de compromiso a órgano blanco. Puede cursar con cefalea, visión borrosa, fosfenos, dolor en flanco derecho, vómito, papiledema, clonus mayor a 3+, hipersensibilidad hepática, Síndrome de HELLP, trombocitopenia (plaquetas menores a 150 000 mm³, elevación de las lipoproteínas de baja densidad LDL, enzimas hepáticas elevadas (ALT o AST)).⁽³⁾

- Eclampsia

Es la complicación mas severa de esta enfermedad, la cual se caracteriza por la nueva aparición de convulsiones tónico-clónicas, focales o multifocales, en la ausencia de otra causa como epilepsia, isquemia o infarto cerebral, hemorragia intracraneal o el uso de drogas.⁽¹¹⁾

Las convulsiones pueden llevar a una hipoxia severa, trauma y neumonía por aspiración; especialmente después de convulsiones recurrentes o hipertensión severa no corregida se puede producir edema citotóxico o infartos cerebrales.⁽⁶⁾

78-83% de los casos presentan síntomas premonitorios de irritación cerebral,

como cefalea frontal u occipital severa persistente, visión borrosa, fotofobia y alteraciones del estado mental.⁽¹²⁾

- HELLP

Una de las presentaciones mas severas de la preeclampsia, que se caracteriza por presentar hemólisis, elevación de enzimas hepáticas y trombocitopenia. La mayoría de los especialistas utilizan los siguientes criterios diagnósticos: DHL igual o mayor a 600 IU/L, AST y ALT por arriba del doble del límite de normalidad y conteo plaquetario por debajo de $100 \times 10^9/L$. Los principales síntomas que se presentan son dolor en el cuadrante superior derecho y malestar general en mas del 90% de las pacientes y en el 50% de los casos con náusea y vómito.⁽¹¹⁾

- Hipertensión crónica con preeclampsia sobreagregada

Desarrollo de preeclampsia o eclampsia en una mujer con hipertensión crónica preexistente.⁽³⁾

3.3 EPIDEMIOLOGÍA

Los desordenes hipertensivos en el embarazo son una complicación muy frecuente en nuestra población; se dice que una de cada diez embarazadas lo presenta, aumentando de forma importante la tasa de morbilidad y mortalidad materno-fetal.⁽¹³⁾

A nivel mundial afecta al 5-7% de todas las embarazadas, provocando 70 000 muertes maternas y 500 000 muertes fetales al año. Las alteraciones hipertensivas durante el embarazo y en particular la preeclampsia de inicio temprano esta asociada a riesgo importante de enfermedad cardiovascular y cerebrovascular a largo plazo.⁽²⁾

El antecedente de preeclampsia en embarazos previos es el factor de riesgo mas importante para la presentación de un desorden hipertensivo en un próximo embarazo. Otros factores de riesgo son la hipertensión crónica, diabetes pregestacional, síndrome antifosfolípidos, obesidad, edad materna avanzada, nuliparidad, historia de enfermedad renal crónica, uso de métodos de reproducción asistida, historia familiar de preeclampsia y mas raro, feto con trisomia 13.⁽¹⁴⁾

3.4 FISIOPATOLOGÍA

La preeclampsia progresa en dos estadios: (a) placentación anormal, en el primer trimestre, seguido de (b) un síndrome materno al final del segundo trimestre y el tercer trimestre, que esta caracterizado por un exceso de factores antiangiogénicos.⁽¹⁵⁾

En pacientes con embarazos normoevolutivos, en el momento de la implantación placentaria, existe una invasión del trofoblasto en las arterias espirales hasta la capa miometrial, desplazando las fibras musculares lisas; con esta remodelación, existe una transformación de vasos de bajo flujo y alta resistencia, a vasos de alto flujo y baja resistencia, favoreciendo la circulación útero placentaria.⁽⁵⁾

ESTADIO 1

PLACENTACIÓN ANORMAL, INVASIÓN TROFOBLÁSTICA Y LA INTERFASE MATERNO - FETAL

En las pacientes preeclámpicas, este proceso de remodelación placentaria no se lleva acabo, teniendo una pobre invasión trofoblastica no se penetra hasta la capa miometrial, sin lograr remover la porción muscular, dejando los vasos de bajo flujo y alta resistencia, condicionando el estado hipoxico, provocando la liberación

de factores tóxicos en la circulación placentaria, que resultan en inflamación, disfunción endotelial y enfermedad materna sistémica.

Las arterias espirales angostas son propensas a la aterosclerosis, caracterizada por la presencia de macrófagos cargados de lípidos dentro de la luz, necrosis fibrinoide de la pared arterial y un infiltrado perivascular mononuclear, llevando a un compromiso en el flujo placentario.⁽⁵⁾ También se encuentran cambios ateroscleróticos en las arterias radiales maternas que alimentan la decidua.

La vasculopatía decidual es una lesión común en los trastornos que provocan una insuficiencia placentaria, incluyendo la restricción del crecimiento intrauterino y la preeclampsia. La decidua de las embarazadas con preeclampsia se muestra con signos de edema endotelial, hipertrofia de la media y pérdida de modificaciones del músculo liso.⁽¹⁶⁾

Se ha asociado la presencia de vasculopatía decidual con la gravedad del cuadro hipertensivo, mayores cifras tensionales, mayor daño renal y muerte perinatal. También asociándose con fetos pequeños para la edad gestacional y en menor medida, pero también, significativa asociación con fetos pequeños para la edad gestacional con anomalías en el Doppler.⁽¹⁶⁾

El perfil transcripcional global del tejido decidual de pacientes con preeclampsia revela defectos en la expresión genética. Estas células fallan en redecidualizar y no se permite una invasión adecuada del trofoblasto.⁽¹⁷⁾

HIPOXIA E INVASIÓN TROFOBÁSTICA

Existe un aumento en los factores de transcripción inducidos por hipoxia (TFs) y los marcadores genéticos relacionados con la hipoxia en la placenta sugieren que la hipoxia es fundamental para la patogénesis de la preeclampsia.⁽²⁾

En las fases tempranas de implantación, el saco gestacional se encuentra en un ambiente de baja tensión de oxígeno, favoreciendo la proliferación del trofoblasto. Antes de la invasión, los trofoblastos proliferantes anclan el blastocisto a los tejidos maternos y tapan las puntas de las arterias espirales dentro de la

decidua, eventualmente estos tapones de la arteria espiral trofoblástica colapsan, formando espacios intervellous. Los nuevos sinusales formados, permiten la llegada de la sangre materna, aumentando la tensión de oxígeno, generando estrés oxidativo, y promoviendo la diferenciación del trofoblasto, de proliferativo a invasivo, que provocará la remodelación de las arterias espirales.⁽¹⁸⁾

Los factores inducidos por hipoxia (HIF) 1 alfa y 2 alfa, son marcadores de privación celular de oxígeno y se encuentran sobreexpresados en trofoblasto y placentas de mujeres con preeclampsia.⁽¹⁹⁾

La inhibición del HIF- 1 alfa por el 2 - metoestradiol, un metabolito del estradiol que inestabiliza al HIF- 1 alfa, suprime la producción de sFLT1, un potente factor antiangiogénico que contribuye al síndrome materno.⁽²⁰⁾ La hipoxia intermitente causada por una implantación anormal puede causar estrés oxidativo. El estrés oxidativo también puede promover la transcripción de factores antiangiogénicos como el sFLT1.⁽²¹⁾

ESTADIO 2. PATOGENESIS DEL SÍNDROME MATERNO

DESBALANCE EN LOS FACTORES ANGIOGÉNICOS

Los principales factores angiogénicos involucrados en este proceso son el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y las proteínas de la familia de la angiopoyetina (ANG).⁽²²⁾

El VEGF es un potente agente mitógeno en las células endoteliales de la micro y macrovasculatura de las arterias, venas y vasos linfáticos. Es considerado un mitógeno específico para las células endoteliales. Además de la activación a nivel de las células endoteliales, incrementa la permeabilidad vascular, promueve la vasculogénesis, la angiogénesis e induce la expresión de activadores de plasminógeno como la uroquinasa y el factor tisular.⁽²³⁾

VEGF es importante para el mantenimiento de la función celular endotelial, especialmente en el endotelio fenestrado, el cual se encuentra en el cerebro, hígado y glomerulos, los principales órganos afectados en la preeclampsia.⁽²⁴⁾

El factor de crecimiento placentario (PIGF), fue el primer factor de la familia del VEGF en ser identificado, esta proteína solo se expresa en el trofoblasto veloso y en la túnica media de algunos vasos de mediano calibre, sus efectos son dependientes de su unión al receptor VEGFR -1 (Flt-1). El FGF estimula la proliferación de las arterias espirales uterinas y de las arterias fetales placentarias. Las angiopoyetinas (ANG-1 y ANG-2) actúan en los estados finales de la angiogénesis. ANG-1 tiene actividad mitógena débil, causa la maduración de células endoteliales y estabilización tisular. ANG-2 es el antagonista natural del ANG-1 en las células endoteliales, inhibe la estabilización y la maduración vascular, lo que permite mayor plasticidad endotelial y mejor respuesta ante el estímulo del VEGF.⁽²²⁾

Los principales receptores celulares involucrados en el inicio de la traducción de señales en respuesta al estímulo del VEGF, son receptores de la familia tirosin kinasa, éstos son VEGFR-1 o Flt-1 (fms- like tyrosine kinase), VEGFR-2 o KDR (Kinase Domain Receptor) y VEGFR-3 o Flt-3. El receptor KDR aparentemente es el que tiene mayor participación en los efectos de crecimiento y permeabilidad mediados por VEGF, mientras que Flt-1 tiene papel regulador negativo. Se cree que el VEGF-3 puede ser importante durante el desarrollo vascular, pero se encuentra principalmente expresado en los vasos linfáticos.⁽²²⁾

Es importante mencionar que el suero de la mujer gestante y en vasos umbilicales se ha identificado una forma soluble de Flt-1 (sFlt-1) cuya acción, se ha demostrado, es la de inhibir los efectos del VEGF, por lo que se considera una proteína antiangiogénica.⁽²²⁾

Los niveles de sFLT1 se encuentran altos y P1GF libre se encuentra disminuido en el momento del diagnóstico clínico de preeclampsia. Las anomalías

plasmáticas de los factores angiogénicos se correlacionan con la predicción de la enfermedad, su severidad y sus posibles complicaciones.⁽²⁵⁾

Otra proteína angiogénica que se ha estudiado, es la endoglina soluble (sENG), la cual se eleva hasta dos meses previos al inicio de las manifestaciones clínicas de preeclampsia y se correlaciona con la severidad. Además parece potenciar los efectos vasculares de sFLT1 para inducir preeclampsia con criterios de severidad, incluyendo el desarrollo de trombocitopenia y restricción del crecimiento intrauterino.⁽²⁶⁾

CITOCINAS INFLAMATORIAS Y ALTERACIONES DEL SISTEMA INMUNE

Se conoce bien que la preeclampsia es un estado proinflamatorio. La interleucina 10, una citocina que induce diferenciación de las células T a Th(T helper)2, conocido como un importante mitigador del síndrome materno, neutralizando las citocinas proinflamatorias. Se ha demostrado que existe una disregulación en el balance de IL-10 y las citocinas proinflamatorias. También es asociado con niveles elevados del complemento y con mutaciones genéticas de C3. La disregulación del complemento es mas severa en las formas severas de preeclampsia, como en HELLP.⁽²⁶⁾

3.5 CAMBIOS HISTOLÓGICOS

La placenta es el registro mas preciso de la experiencia prenatal y refleja, como un espejo, el estado intrauterino y el resultado fetal postnatal.⁽²⁷⁾

Los principales cambios histopatologicos placentarios en la enfermedad hipertensiva durante el embarazo son:

- Vasculopatía decidual

- Infartos
- Desprendimiento prematuro placentario
- Mal desarrollo veloso
- Disminución del crecimiento

Estos hallazgos no necesariamente se correlacionan con la enfermedad clínica. Cambios placentarios severos también pueden ocurrir en pacientes asintomáticas. Estos cambios no son exclusivos de la preeclampsia, se pueden encontrar en otros padecimientos como lupus y trombofilias. De cualquier manera, son indicativos de una perfusión anómala de la placenta. ⁽²⁸⁾

CAMBIOS VASCULARES DECIDUALES

Ocurren varios cambios en las arteriolas deciduales, reportándose como vasculopatía decidual, arteriopatía decidual o arterioloopatía decidual. Estos son causantes de cambios placentarios como infartos y desprendimientos. ⁽²⁹⁾

Los cambios vasculares incluyen:

- Falta de conversión fisiológica
 - Focal o completa
 - Persistencia del músculo liso arteriolar
 - Disminución del diámetro luminal
- Trombosis
- Vasculitis
- Aterosis
- Necrosis fibrinoide

Bajo condiciones fisiológicas, el trofoblasto infiltra las arterias espirales, desde la decidua y el miometrio superficial, destruyendo la capa muscular, reemplazándolo con fibrinoide, provocando que el lumen aumente su diámetro, y haciéndolo incapaz de tener respuesta vasoconstrictora a varios mediadores vasoactivos. ⁽²⁸⁾

En preeclampsia y otros desordenes de mala perfusión, la invasión del trofoblasto es mas superficial, persistiendo la capa muscular, ya sea de forma parcial o completa. Esto es a lo que se le conoce como falta de conversión fisiológica. Infiltración grasa de las paredes endoteliales y posteriormente macrófagos fagocitando grasa, estos cambios son conocidos como aterosclerosis y son muy característicos de cambios en la preeclampsia. Proliferación de la íntima y muscular, junto con daño del endotelio vascular, llevan a trombosis vascular decidual. Eventualmente, necrosis fibrinoide de la media. Cambios inflamatorios como inflamación crónica del tejido decidual y vasos deciduales, referida como vasculitis decidual. El adelgazamiento vascular o “espasmo”, se encuentra mas frecuentemente en hipertensión crónica, sin hipertensión inducida por el embarazo o preeclampsia. ⁽³⁰⁾

INFARTOS

Los infartos son firmes áreas muertas condensadas de tejido veloso que puede ocupar todo el espesor de la placenta. Frecuentemente, incluye la base de la placenta y son particularmente comunes en las orillas. Cuando los infartos se encuentran lejos de los márgenes placentarios y se encuentran particularmente de forma aleatoria, se dice que existe invariablemente condiciones de mal perfusión. Infartos en cualquier localización en el primer y segundo trimestre, son anormales siempre. ⁽³¹⁾

Macroscópicamente son firmes, de superficie granular. Infartos iniciales son rojo oscuro y congestivos, mientras envejecen se convierten a amarillos, gris y finalmente blancos. Microscópicamente, el cambio mas temprano es la congestión de los capilares velosos y hemorragia intravellosa, seguida de aglutinación velosa, o colapso del espacio intervelloso. El endotelio y los eritrocitos intravasculares pierden coloración y se vuelven pálidos. Con el tiempo, el trofoblasto y el estroma veloso pierden completamente su coloración. ⁽²⁹⁾

El porcentaje de masa placentaria dañada, tiene una importancia significativa clínica para el feto. Se dice que se necesita un mínimo de 190 grs de placenta sana para la supervivencia fetal. Infartos que lesionen menos del 10% del parénquima placentario no afecta la oxigenación *per se*.⁽³¹⁾

DESPRENDIMIENTO PLACENTARIO

La causa predisponente mas común es la preeclampsia. Los cambios anteriormente mencionados, llevan a una hemorragia venosa, resultando en un hematoma retroplacentario, el cual empuja la placenta fuera del útero y finalmente, el tejido veloso que rodea el hematoma se infartará.⁽³²⁾

MAL DESARROLLO VELLOSO Y GRUPOS SINCITIALES

El porcentaje de grupos sincitiales aumenta con la edad gestacional a un máximo de 28% en un embarazo de término. Cuando se presenta en más de 28-30% de las velosidades terminales, especialmente en placentas prematuras, es diagnóstico de algún grado de compromiso en la perfusión.⁽²⁹⁾

Diferentes patrones de mal desarrollo veloso se asocian a hipoxia preplacentaria, uteroplacentaria y postplacentaria.

- Hipoxia preplacentaria: puede estar asociada con anemia materna, cianosis materna, o alguna otra condición en la que la madre curse con hipoxia. Madre y feto están hipóxicos.
- Hipoxia uteroplacentaria: el ejemplo mas común es la hipertensión inducida por el embarazo y preeclampsia. En este caso, la madre esta bien oxigenada, pero el feto esta hipóxico.
- Hipoxia postplacentaria: Fuertemente relacionada con restricción del crecimiento intrauterino asociado con flujo diastólico ausente, o reverso. La madre y la placenta pueden tener buena oxigenación y solo el feto se encuentra hipóxico.^(28, 29, 30)

Grado de maduración: Maduración acelerada, cambio de vellosidades intermedias inmaduras, a vellosidades intermedias y terminales maduras. Provocando vellosidades mas pequeñas, con aumento de los grupos sincitiales. Además el tipo y grado de angiogenesis fetoplacentaria. ⁽²⁹⁾

En la hipoxia postplacentaria hay niveles de oxigeno elevados, que producen angiogenesis sin ramificación, resultando en pobre desarrollo, con vellosidades largas, esbeltas o filiformes, con mínima ramificación, mínimos grupos sincitiales y asas capilares largas, en gran medida no ramificadas. A esto se le conoce como hipoplasia vellosa. En hipoxia preplacentaria la bajos niveles de oxigeno inducen angiogenesis ramificada, resultando en racimos de vellosidades terminales ricamente capilarizadas, cortas, altamente ramificadas y con muescas, que muestran un aumento de los grupos sincitiales o cambios de Tenney -Parker. En hipoxia uteroplacentaria los hallazgos son parecidos a la preplacentaria, independientemente sin son complicadas con preeclampsia. ⁽³¹⁾

DEFICIENCIA VELLOSA TERMINAL

Predominando vellosidades pequeñas y redondas, con diámetros de 30-60 mcm. La prevalencia de vellosidades con diámetros pequeños, en combinación con vellosidades no ramificadas, filiformes, de bajo calibre, ausencia de grupos sincitiales y espacios amplios inusuales intervallosos, hacen una mas fácil identificación. ^(28,30)

Hay varios estudios en los que se ha reportado que la hiperplasia del citotrofoblasto se encuentra muy marcada en placentas de pacientes que cursaron con síndrome de preeclampsia - eclampsia, y su presencia podría correlacionarse con alta incidencia de hipoxia fetal y muerte intrauterina. Fox sugiere, que si el sincitiotrofoblasto sufre daño isquémico, el citotrofoblasto prolifera e intenta

reemplazar el tejido dañado. Por lo tanto, el grado de hiperplasia citotrofoblástica está relacionado con la gravedad de la isquemia. ⁽²⁰⁾

Genset en 1992 informó que la hiperplasia citotrofoblástica y la formación excesiva de grupos sincitiales se ven en los trastornos hipertensivos del embarazo como resultados invariables de la reducción general de la perfusión placentaria. ⁽³³⁾

Fox informó que las placentas del embarazo maduro no deberían contener vellosidades con necrosis fibrinoide en más del 3% de las vellosidades. Se informa una incidencia relativamente mayor de esta lesión en embarazos complicados por hipertensión. ⁽²⁰⁾

La etiología de la preeclampsia todavía no se encuentra completamente comprendida. En los últimos años se ha propuesto que la cantidad de trofoblasto se relaciona como mecanismo de activación de la enfermedad.

Sin embargo, hay muy pocos estudios sobre la proliferación del trofoblasto en este síndrome. ⁽²⁶⁾

3.6 MARCADOR KI-67

Ki67 es un marcador de proliferación celular, muestra una buena correlación con el número de células mitóticas. También se conoce como el antígeno identificado por el anticuerpo monoclonal y generalmente se usa para determinar el índice mitótico y para clasificación tumoral. ⁽⁷⁾

Es una proteína que ha demostrado tener un papel importante en la regulación del ciclo celular, ausente en las células estacionadas o sin replicación, y alcanza niveles máximos de expresión durante la mitosis. El gen de Ki-67 está ubicado en el brazo largo del cromosoma humano número 10. Varios estudios han comprobado la relación entre el Ki-67 con otros marcadores de proliferación celular como el índice mitótico y la tirosina quinasa. ⁽³⁴⁾

El anticuerpo monoclonal Ki-67 detecta un antígeno nuclear que se expresa exclusivamente en las células que entran al ciclo celular (fases G1, S, G2 y mitosis) pero no en G0, por lo que es útil para evaluar la tasa de proliferación. Permite evaluar fácil y rápidamente la proporción de células que proliferan, ya que determina la fracción de crecimiento de una población celular. ⁽³⁴⁾

En la literatura, existen estudios limitados en los que se ha realizado la detección de marcadores de proliferación por métodos inmunohistoquímicos para preeclampsia. Unek y sus colegas han demostrado recientemente que las intensidades de tinción de Ki-67 aumentaron significativamente en las partes vellosas de las placentas en pacientes preeclámpicas. ⁽³⁵⁾

En los últimos años, se ha sugerido que existe una amenaza de preeclampsia en todos los embarazos, dependiendo de la cantidad de trofoblasto, la naturaleza de la respuesta inmune materna y la sensibilidad renovascular subyacente, y especialmente una cantidad adecuada de antígenos trofoblasto pueden desencadenar una respuesta inmune, resultando en lesión endotelial. Por lo que un aumento en el trofoblasto puede ser importante en el desarrollo de este síndrome. En los embarazos molares, se encuentra una actividad proliferativa del trofoblasto aumentada, lo que resulta en preeclampsia, respaldándose esta hipótesis. ⁽³⁶⁾

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL:

Determinar el grado de expresión del marcador Ki-67 en las placentas de pacientes con enfermedad hipertensiva durante la gestación.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 1) Determinar el grado de expresión de Ki-67 en placentas de mujeres con hipertensión gestacional, de acuerdo con la clasificación de la enfermedad.
- 2) Reportar el estado al nacimiento de hijos de madres con hipertensión en el embarazo según la gravedad del cuadro.
- 3) Describir los cambios histológicos en placentas de mujeres con hipertensión gestacional, preeclampsia sin criterios de severidad, preeclampsia con criterios de severidad, eclampsia y síndrome de HELLP.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

<u>DISEÑO DEL ESTUDIO</u>	Longitudinal
<u>MÉTODO DE ESTUDIO</u>	Observacional
<u>TIPO DE ANÁLISIS</u>	Descriptivo/ Analítico
<u>TEMPORALIDAD</u>	Ambispectivo

Se clasifican las pacientes desde su ingreso, bajo los criterios ACOG para preservar placenta para estudio histopatológico

Se estudian 17 pacientes que fueron ingresadas en el Hospital General de Cholula, entre Noviembre del 2019 hasta Marzo del 2020, estudio que fue interrumpido por pandemia por SARS-Cov2.

Estas pacientes fueron diagnosticadas y clasificadas por enfermedad hipertensiva inducida en el embarazo, se tomaron los criterios de la American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) guidelines para dicha clasificación, y se recabaron hallazgos clínicos, bioquímicos y datos específicos del recién nacido al momento de la resolución obstétrica, momento en el cual se tomo la placenta para estudio histopatológico.

Las placentas se obtuvieron inmediatamente en el momento del nacimiento, estas fueron sumergidas en una solución neutral bufferada al 10% de formol.

Se tomaron las piezas por separado, se recabo información sobre las características macroscópicas de las mismas y se realizaron mediciones de las dimensiones.

Se realizan cortes de 0.5cm a lo largo de la placenta, en búsqueda de alteraciones macroscópicas. Se tomaron cortes de 0.5cm y se colocaron en cassetes de inclusión, fijados con formol bufferado al 10%. Después de que la muestra se fijó, se realiza proceso histológico de deshidratación, posteriormente incluidos y envueltos en gelatina y parafinado final. Se realiza revisión microscópica con técnica de hematoxilina - eosina y se evalúan cambios característicos como la presencia de hiperplasia de trofoblasto, hiperplasia vellosa, vasculopatía decidual y la presencia de infartos. Se recabo la información en una tabla, junto con las características clínicas y bioquímicas de las pacientes estudiadas.

Se selecciona fragmento de tejido y se realizar reacciones de inmunoperoxidasa con antígeno Ki-67 (Mki67) Clona 35/Ki-67, purificada de murino, marca Biocare.

Se realiza valoración de los mismos, determinando porcentaje de positividad, valorado en campo de 10X, siendo este significativo al expresarse mayor del 20%.

5.1 LUGAR Y DURACIÓN

Se realizó una revisión de expedientes de una serie de casos ambispectiva de pacientes con enfermedad hipertensiva en el embarazo en el Hospital General de Cholula, Puebla, de Noviembre 2019 a Marzo 2020 de acuerdo a los criterios de selección.

Tiempo de estudio interrumpido por Pandemia SARS-Cov 2.

5.2 UNIVERSO

Se recopila información sobre pacientes que fueron diagnosticadas con enfermedad hipertensiva inducida por el embarazo y atendidas en el Hospital General de Cholula, Puebla, siendo clasificadas según la guía del Colegio Americano de Ginecología y Obstetricia (ACOG) y que cumplieran con los criterios de selección.

5.3 CRITERIOS DE SELECCION

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- a) Pacientes que se hayan clasificado con algún grado de enfermedad hipertensiva durante la gestación (hipertensión gestacional, preeclampsia sin criterios de severidad, preeclampsia con criterios de severidad, Eclampsia y Síndrome de HELLP) y cuya resolución obstétrica se realizó en el Hospital General de Cholula entre Noviembre 2019 a Marzo 2020.
- b) Pacientes cuya obtención de placenta se hizo inmediatamente al nacimiento.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- a) Pacientes con diagnóstico de hipertensión crónica.
- b) Pacientes con comorbilidades previamente diagnosticadas
- c) Pacientes con uso de tabaco

5.4 DEFINICIÓN OPERACIONAL DE LAS VARIABLES

Variable	Tipo de variable	Definición operacional	Escala de medición	Indicadores
Edad materna	Cuantitativa continua	Años cumplidos calculados a partir de la fecha de nacimiento reportada en el expediente clínico.	Razón	Años.
Paridad	Cuantitativa discreta	Número de embarazos que ha presentado la paciente reportados en expediente clínico al momento de la toma de muestra.	Razón	Número de embarazos.
Edad gestacional	Cuantitativa continua	Edad gestacional del embarazo al momento del nacimiento, calculado por fecha de última regla.	Razón	Semanas.
Transaminasemia	Cuantitativa continua	Valor identificado al momento del diagnóstico del cuadro hipertensivo.	Razón	
Trombocitopenia	Cuantitativa continua	Valor identificado al momento del diagnóstico del cuadro hipertensivo.	Razón	
Proteinuria	Cuantitativa continua	Presencia de proteinuria significativa durante la clasificación del estado hipertensivo, utilizando recolección de orina de 24 hrs.	Ordinal	0. No significativa 1. Significativa
Creatinina	Cuantitativa continua	Valor identificado al momento del diagnóstico del cuadro hipertensivo.	Razón	
Tipo de enfermedad hipertensiva	Cualitativa ordinal	Clasificación del estado hipertensivo, utilizando criterios diagnósticos de ACOG.	Ordinal	1. Hipertensión gestacional 2. Preeclampsia sin criterios de severidad 3. Preeclampsia con criterios de severidad 4. Eclampsia 5. Síndrome de HELLP
Vía de resolución	Cualitativa nominal	Vía de resolución obstétrica reportada en el expediente clínico.	Nominal	1. Parto 2. Cesárea

Resultados neonatales	Cualitativa nominal	Embarazos reportados en expedientes clínicos a lo largo de su vida.	Nominal	1. Nacido vivo 2. Muerte perinatal
Peso al nacer	Cuantitativa continua	Peso al nacimiento reportado en el expediente clínico.	Razón	1. Bajo peso al nacer 2. Normal 3. Grande para la edad gestacional
Apgar	Cuantitativa discreta	Calificación APGAR al minuto y 5 minutos del nacimiento, considerándose calificación baja por debajo de 8.	Razon	1. Normal 2. Bajo al nacimiento
Reanimación neonatal avanzada	Cualitativa nominal	Requerimiento de reanimación neonatal avanzada al nacimiento, reportado en el expediente clínico.	Nominal	1. 0. No 2. 1. Si ***
Hiperplasia del trofoblasto	Cualitativas nominales	Se evaluó la presencia o ausencia de hiperplasia de trofoblasto en estudio histopatológico posterior a la toma de muestra.	Nominal	0. Ausente 1. Presente
Hipoplasia vellosa	Cualitativas nominales	Se evaluó la presencia o ausencia de hipoplasia vellosa en estudio histopatológico posterior a la toma de muestra.	Nominal	0. Ausente 1. Presente
Vasculopatía decidual	Cualitativas nominales	Se evaluó la presencia o ausencia de vasculopatía decidual en estudio histopatológico posterior a la toma de muestra.	Nominal	0. Ausente 1. Presente
Infartos	Cualitativa ordinal	Se evaluó la presencia o ausencia de infartos en estudio histopatológico posterior a la toma de muestra.	Ordinal	0. Asentes 1. Agudos 2. Crónicos

Diámetro placentario	Cualitativa ordinal	Medición del diámetro placentario, clasificado según como pequeño, normal y grande según la edad gestacional.	Ordinal	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pequeña 2. Normal 3. Grande
Ki- 67	Cualitativa ordinal	Grado de proliferación del marcador Ki-67 en corte histológico de placenta, considerándose mayor de 20% como significativo.	Ordinal	<ol style="list-style-type: none"> 1. Significativo 2. No significativo

6. RESULTADOS

Se realizó un resumen de las características maternas y fetales de nuestra población en estudio, detallando sobre la demografía materna, historial obstétrico, resultados del embarazo, resultados neonatales, sintomatología materna y laboratorios a su ingreso, que se encuentran detallados en la tabla 1. Se analizó la información de 17 pacientes quienes presentaron una edad mínima de 17 años, una máxima de 40 años, una media de 26.2 años y una desviación estándar (DE) de ± 6.7 años. La edad gestacional mínima fue de 25 semanas, la máxima fue de 41.1 semanas, la media de 36.2 semanas y la DE fue de ± 4.3 semanas. En cuanto al número de embarazos de las pacientes, se presentó un mínimo de 1 embarazo con un máximo de 4 embarazos, una media de 2 embarazos y una DE de ± 1.1 embarazos (Tabla 1 y 2).

Respecto a la TAS se encontró un mínimo de 140 mmHg, un máximo de 200 mmHg, una media de 161.9 mmHg y una DE de ± 18.6 mmHg. En cuanto a la TAD se encontró un mínimo de 84 mmHg, un máximo de 140 mmHg, una media de 103.6 mmHg y una DE de ± 15.0 mmHg. El nivel mínimo de TGO fue de 21 IU/L, el máximo fue de 766 IU/L, la media de 110.9 IU/L y la DE de ± 184.7 IU/L; en cuanto a los niveles de TGP, el nivel mínimo fue de 7 IU/L, el máximo de 469 IU/L, la media de 64.1 IU/L y la DE de ± 120.7 IU/L. Los niveles mínimos de proteinuria fueron de 0 mg/dL, el máximo fue de 1000 mg/dL, la media de 347.4 mg/dL y la DE de ± 343.9 mg/dL. Respecto al conteo de plaquetas, se encontró un mínimo de 48,000 uL, un máximo de 289,000 uL, una media de 192,294.1 uL y una DE de $\pm 74,476.3$ uL.

En el 47.1% (n=8) de las pacientes la vía de resolución del embarazo fue mediante parto mientras que en el 52.9% (n=9) restante la vía de resolución fue cesárea. El 58.8% (n=10) de los recién nacidos presentaron bajo peso al nacer y el 41.2% (n=7) presentaron peso normal. El 58.8% (n=10) de los recién nacidos se clasificaron en APGAR normal y el 29.4% (n=5) se clasificaron en APGAR bajo. El 41.2% (n=7) de los recién nacidos requirieron reanimación avanzada mientras que el 58.8% (n=10) restante no lo requirió.

El 76.5% (n=13) de los recién nacidos no requirieron hospitalización en UCIN mientras que, en la misma proporción, se presentaron casos con una duración de 1 a 5 días en UCIN y más de 5 días en UCIN con 11.8% (n=2) cada uno. El 76.5% de los casos fueron nacidos vivos mientras que en el 23.5% (n=4) de los casos se presentó muerte perinatal.

Tabla 1. Características clínicas de la población en estudio

Demografía materna	
Edad (años)	26.2 (17-40) DE \pm 6.7
Historia obstétrica	
Gestas	2 (1-4 gestas) DE \pm 1.1
Resultados del embarazo	
Edad gestacional al nacimiento	36.2 semanas (25-41.1 semanas) DE \pm 4.3
Parto	8 (47.1%)
Cesárea	9 (52.9%)
Resultados neonatales	
Apgar bajo	5 (29.4%)
Requerimiento de reanimación neonatal avanzada	7 (41.2%)
Hospitalización UCIN 1 a 5 días > 5 días	2 (11.8%) 2 (11.8%)
Bajo peso al nacer	10 (58.8%)
Muerte perinatal	4 (23.5%)

Tabla 2. Características clínicas de la población en estudio

Síntomas maternos	
Cefalea	10 (58.8%)
Síntomas visuales	4 (23.5%)
Tensión arterial sistólica (mmHg)	161.9 (140-200) DE \pm 18.6
Tensión arterial diastólica (mmHg)	103.6 (84-140) DE \pm 15
Laboratorios	
Plaquetas (IU/L)	192 294.1u/L (48 000 - 289 000) DE \pm 74,476.3
Creatinina (mg/dL)	0.6 (0.2 - 1.5) DE \pm 1.29
TGO (U/L)	110.9 (21-766) DE \pm 184.7
TGP (U/L)	64.1 (7-469) DE \pm 120.7
Proteinuria (mg/día)	347.4 (0-1000) DE \pm 343.9

Respecto a los estados hipertensivos en el embarazo, el estado más frecuente fue la preeclampsia con criterios de severidad con el 41.2% (n=7) de los casos seguido de la hipertensión gestacional, la preeclampsia sin criterios de severidad y el síndrome de HELLP que se presentaron en la misma proporción con el 17.6% (n=3) cada uno, en menor proporción se presentó la eclampsia con el 5.9% (n=1) de los casos (Tabla 3)

Tabla 3. Estados hipertensivos en el embarazo.

		n	%
Estado hipertensivo en el embarazo	Hipertensión gestacional	3	17.6
	Preeclampsia sin criterios de severidad	3	17.6
	Preeclampsia con criterios de severidad	7	41.2
	Eclampsia	1	5.9
	HELLP	3	17.6
	Total	17	100.0

La expresión de Ki-67 fue significativa en el 70.6% (n=12) de los casos (Tabla 4). En la comparación de la expresión de Ki-67 de acuerdo con los estados hipertensivos en el embarazo, dentro del grupo de mujeres con resultado significativo, el 50.0% (n=6) de los casos fueron de mujeres con preeclampsia con criterios de severidad, seguido del 25% (n=3) de los casos con síndrome de HELLP; en el grupo de mujeres con resultado no significativo el 40% (n=2) de los casos fueron de mujeres con preeclampsia sin criterios

de severidad y de mujeres con hipertensión gestacional, en este grupo no se presentaron casos de eclampsia ni de síndrome de HELLP, sin embargo, no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la expresión de Ki-67 y el estado hipertensivo en el embarazo (Tabla 4).

Tabla 4. Comparación de la expresión de Ki-67 por estado hipertensivo en el embarazo.

		Significativo		No significativo		Total		P*
		n	%	n	%	n	%	
Estado hipertensivo en el embarazo	Hipertensión gestacional	1	8.3	2	40.0	3	17.6	0.206
	Preeclampsia sin criterios de severidad	1	8.3	2	40.0	3	17.6	
	Preeclampsia con criterios de severidad	6	50.0	1	20.0	7	41.2	
	Eclampsia	1	8.3	0	0.0	1	5.9	
	HELLP	3	25.0	0	0.0	3	17.6	
	Total	12	70.6	5	29.4	17	100.0	

* Prueba Exacta de Fisher.

En el análisis de correlación entre el estado hipertensivo en el embarazo y la expresión de Ki-67 se encontró una correlación positiva débil, es decir, a mayor estado hipertensivo en el embarazo, habrá una mayor expresión de Ki-67 (Rho = 0.208), sin embargo, esta correlación no mostró ser estadísticamente significativa (P=0.422) (Tabla 5).

Tabla 5. Correlación del estado hipertensivo en el embarazo con la expresión de Ki-67.

	Rho ^a	P
Expresión Ki-67 (%)	0.208	0.422

a. Coeficiente de correlación de Spearman.

En la comparación del estado de los recién nacidos se encontró que, en preeclampsia sin criterios de severidad, en eclampsia y en síndrome de HELLP, la vía de resolución del embarazo más frecuente fue la cesárea con el 66.7% (n=2), el 100% (n=1) y el 100% (n=3) respectivamente; en hipertensión gestacional y en preeclampsia con criterios de severidad la vía de resolución del embarazo más frecuente fue el parto con 66.7% (n=2) y 71.4% (n=5) respectivamente, sin embargo no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre el estado hipertensivo en el embarazo y la vía de resolución del embarazo (P=0.300) (Tabla 6).

El bajo peso se presentó en el 66.7% (n=2) del grupo de mujeres con preeclampsia sin criterios de severidad, en el 57.1% (n=4) del grupo de mujeres con preeclampsia con criterios de severidad, y en el 100% de los casos con eclampsia (n=1) y con síndrome de HELLP (n=3), además no hubo casos de bajo peso en el grupo de mujeres con hipertensión gestacional, sin embargo, no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre el estado hipertensivo en el embarazo y las categorías de peso al nacer (P=0.164) (Tabla 6).

Se presentó un APGAR bajo en el 66.7% (n=2) de las mujeres con hipertensión gestacional, en el 14.3% (n=1) de las mujeres con preeclampsia con criterios de severidad y en el 66.7% de las mujeres con síndrome de HELLP, además no se presentaron casos de APGAR bajo en el grupo de mujeres con preeclampsia sin criterios

de severidad ni en el grupo de mujeres con eclampsia, sin embargo, no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre el estado hipertensivo en el embarazo y las categorías de APGAR ($P=0.438$) (Tabla 6).

El 42.9% ($n=3$) de los recién nacidos de mujeres con preeclampsia con criterios de severidad requirieron reanimación avanzada, mientras que el 100% de los recién nacidos de mujeres con eclampsia ($n=1$) y con síndrome de HELLP ($n=3$) requirieron reanimación avanzada; la reanimación avanzada no fue requerida en los recién nacidos del grupo de mujeres con hipertensión gestacional ni en el grupo de mujeres con preeclampsia sin criterios de severidad; se encontró una asociación estadísticamente significativa entre el estado hipertensivo en el embarazo y la reanimación avanzada en los recién nacidos ($P=0.028$) (Tabla 6).

Se presentó una estancia en UCIN mayor a 5 días solamente en los recién nacidos de mujeres con eclampsia con el 100% ($n=1$) de los casos y en los recién nacidos de mujeres con síndrome de HELLP con el 33.3% ($n=1$) de los casos; los recién nacidos de mujeres con hipertensión gestacional, con preeclampsia sin criterios de severidad y con preeclampsia con criterios de severidad no requirieron días de hospitalización en UCIN; se encontró una asociación estadísticamente significativa entre el estado hipertensivo en el embarazo y los días de hospitalización en UCIN de los recién nacidos ($P=0.001$) (Tabla 6).

La muerte perinatal se presentó en el 28.6% ($n=2$) de las mujeres con preeclampsia con criterios de severidad, en el 100% ($n=1$) de las mujeres con eclampsia y en el 33.3% ($n=1$) de las mujeres con síndrome de HELLP, no se presentó ningún caso de muerte perinatal en el grupo de mujeres con hipertensión gestacional ni en el grupo de mujeres con preeclampsia sin criterios de severidad; no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre el estado hipertensivo en el embarazo y la muerte perinatal ($P=0.550$) (Tabla 6).

Tabla 6. Comparación del estado de los recién nacidos por estado hipertensivo en el embarazo.

		Hipertensión gestacional		Preeclampsia sin criterios de severidad		Preeclampsia con criterios de severidad		Eclampsia		HELLP		P*
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Vía de resolución de embarazo	Parto	2	66.7	1	33.3	5	71.4	0	0.0	0	0.0	0.300
	Cesárea	1	33.3	2	66.7	2	28.6	1	100.0	3	100.0	
Categorías de peso al nacer	Bajo peso	0	0.0	2	66.7	4	57.1	1	100.0	3	100.0	0.164
	Peso normal	3	100.0	1	33.3	3	42.9	0	0.0	0	0.0	
APGAR	Normal	1	33.3	3	100.0	4	57.1	1	100.0	1	33.3	0.438
	Bajo	2	66.7	0	0.0	1	14.3	0	0.0	2	66.7	
	No aplica	0	0.0	0	0.0	2	28.6	0	0.0	0	0.0	

RN requiere reanimación avanzada	No requiere	3	1 0 0.	3	1 0 0.	4	57. 1	0	0. 0	0	0. 0	0. 02 8
	Sí requiere	0	0. 0	0	0. 0	3	42. 9	1	1 0 0. 0	3	10 0. 0	
Días de hospitalización en UCIN	Ninguno	3	1 0 0.	3	1 0 0.	7	100. 0	0	0. 0	0	0. 0	0. 00 1
	1 a 5 días	0	0. 0	0	0. 0	0	0.0	0	0. 0	2	66 .7	
	Más de 5 días	0	0. 0	0	0. 0	0	0.0	1	1 0 0. 0	1	33 .3	
Muerte fetal	Nacido vivo	3	1 0 0.	3	1 0 0.	5	71. 4	0	0. 0	2	66 .7	0. 55 0
	Muerte perinatal	0	0. 0	0	0. 0	2	28. 6	1	1 0 0. 0	1	33 .3	
	Total	3	1 7. 6	3	1 7. 6	7	41. 2	1	5. 9	3	17 .6	

* Prueba Exacta de Fisher.

Se realizó la comparación de las patologías placentarias por los estados hipertensivos en el embarazo, dentro del grupo de mujeres con hipertensión gestacional, el 66.7% (n=2) presentó grupos sincitiales de hiperplasia de trofoblasto, el 66.7% (n=2) presentó hipoplasia vellosa, no se presentaron casos de vasculopatía decidual ni de infartos agudos y el 33.3% (n=1) presentó infartos crónicos. En el grupo de mujeres con preeclampsia sin criterios de severidad, el 33.3% (n=1) presentó grupos sincitiales de hiperplasia de trofoblasto, el 66.7% (n=2) presentó hipoplasia vellosa, no se presentaron

casos de vasculopatía decidual, el 33.3% (n=1) presentó infartos agudos y el 33.3% (n=1) presentó infartos crónicos (Tabla 8).

Dentro del grupo de mujeres con preeclampsia con criterios de severidad, el 100% (n=7) presentó grupos sincitiales de hiperplasia de trofoblasto, el 85.7% (n=6) presentó hipoplasia vellosa, no se presentaron casos de vasculopatía decidual, el 14.3% (n=1) presentó infartos agudos y el 57.1% (n=4) presentó infartos crónicos. En el grupo de mujeres con eclampsia el 100% (n=1) presentó grupos sincitiales, no presentó hipoplasia vellosa, presentó vasculopatía decidual y presentó infartos agudos (Tabla 8).

Dentro del grupo de mujeres con síndrome de HELLP, el 100% (n=3) presentó grupos sincitiales de hiperplasia de trofoblasto e hipoplasia vellosa, el 66.7% (n=2) presentó vasculopatía decidual, el 33.3% (n=1) presentó infartos agudos y el 33.3% (n=1) presentó infartos crónicos. Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre el estado hipertensivo en el embarazo y la vasculopatía decidual ($P=0.018$), sin embargo, esta asociación no fue significativa entre el estado hipertensivo en el embarazo y la hiperplasia de trofoblasto ($P=0.137$), la hipoplasia vellosa ($P=0.550$) y los infartos ($P=0.915$) (Tabla 8).

Tabla 8. Comparación de las patologías placentarias por estado hipertensivo en el embarazo.

		Hipertensión gestacional		Preeclampsia sin criterios de severidad		Preeclampsia con criterios de severidad		Eclampsia		HELLP		P*
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Hiperplasia de trofoblasto	Ausente	1	33.3	2	66.7	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0.137
	Grupos sincitiales	2	66.7	1	33.3	7	100.0	1	100.0	3	100.0	
Hipoplasia vellosa	Ausente	1	33.3	1	33.3	1	14.3	1	100.0	0	0.0	0.550
	Presente	2	66.7	2	66.7	6	85.7	0	0.0	3	100.0	
Vasculopatía decidual	Ausente	3	100.0	3	100.0	7	100.0	0	0.0	1	33.3	0.018
	Presente	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	100.0	2	66.7	
Infartos	Ausente	2	66.7	1	33.3	2	28.6	0	0.0	1	33.3	0.915
	Agudos	0	0.0	1	33.3	1	14.3	1	100.0	1	33.3	
	Crónicos	1	33.3	1	33.3	4	57.1	0	0.0	1	33.3	
	Total	3	17.6	3	17.6	7	41.2	1	5.9	3	17.6	

* Prueba Exacta de Fisher.

7. DISCUSIÓN

La enfermedad hipertensiva durante el embarazo es una complicación muy frecuente en nuestra población y se ha relacionado de forma importante con complicaciones materno fetales tanto a corto como a largo plazo.

Debido a las graves y frecuentes complicaciones presentadas por esta enfermedad, se ha estudiado de forma amplia y se han encontrado varias teorías que intentan explicar la causa de esta enfermedad. Hay autores que han llegado a la conclusión de que la placenta es el registro mas preciso de la experiencia prenatal y refleja el estado intrauterino y el resultado fetal postnatal.

La placenta humana es un órgano con actividades que se pueden comparar a los tumores, en donde se lleva a cabo proliferación, migración e invasión de las células del trofoblasto extraveloso. Es autónoma y es capaz de modular su propio crecimiento y función ⁽³⁷⁾. Investigaciones como la de Bulmer *et al* mostraron que la mayoría de las células citotrofoblásticas tienen reactividad nuclear al marcador Ki-67 y parece conservar su capacidad proliferativa hasta el final del embarazo ⁽³⁶⁾.

Los cambios producidos por la enfermedad hipertensiva puede ser que provoquen cambios compensatorios que provoquen el aumento en la proliferación del trofoblasto. ⁽³⁸⁾

Se han descrito los principales cambios histológicos placentarios en las pacientes que cursan con enfermedad hipertensiva durante la gestación como vasculopatía decidual, infartos, desprendimiento prematuro placentario y mal desarrollo veloso. Cambios sobre todo relacionados con una perfusión anómala de la placenta. Una gran parte de nuestro estudio se basa en describir estos hallazgos y como se correlacionan con la gravedad del estado hipertensivo en las pacientes estudiadas.

Se analizó la información de 17 pacientes, con una edad media de 26.2 años y una edad gestacional media de 36.2 semanas. En general se han estudiado a pocas pacientes en la literatura encontrada sobre los hallazgos placentarios y la expresión del marcador Ki-67 en pacientes que presentan hipertensión durante la gestación. Por ejemplo, en un estudio realizado por Aysun Ekinci, *et al* en el año 2018 se estudiaron a 10 pacientes embarazadas con síndrome de HELLP y 10 pacientes sanas con 34 a 38 semanas de gestación. En otro estudio realizado por Ubo Jeschke *et al*, se estudiaron 27 placentas, 8 con diagnóstico de preeclampsia, 5 con síndrome de HELLP y 8 placentas normales. ⁽³⁸⁾

Se han encontrado pocos estudios sobre el tema, y los que se han realizado tienen tamaños de muestra pequeños.

En nuestra muestra se encontró un ligero aumento en la frecuencia de resolución por vía abdominal, con un 52.9%. El 58.8% de los recién nacidos presentaron bajo peso al nacer, y el 29.4% presentaron una calificación de APGAR baja al nacer, 41.2% de estos requiriendo maniobras de reanimación avanzada. Jerzy Stanek en el 2018 realiza un estudio sobre los hallazgos histológicos en las placentas de pacientes que presentan preeclampsia de presentación temprana y tardía, encontrando que la presencia de vasculopatía decidual está fuertemente asociada con peores resultados clínicos, tanto maternos como fetales, encontrando clínicamente mayores valores de tensión arterial, peor funcionamiento renal, así como mayor número de casos de muerte perinatal. ⁽³⁹⁾

Dentro de nuestro estudio, la mayoría fueron clasificadas con preeclampsia con criterios de severidad, abarcando al 41.2% de las pacientes estudiadas, seguido por hipertensión gestacional, preeclampsia sin criterios de severidad y síndrome de HELLP con la misma proporción de 17.6% cada uno, y en menor proporción Eclampsia con 5.9%.

Podemos ver como se encontró una tendencia a encontrar mayores cambios histológicos en las enfermedades más severas, sin embargo solo se encontró significancia estadística en la vasculopatía decidual con una *p* significativa de 0.018. El resto de cambios histológicos no presentaron significancia estadística, sin embargo

recordamos que nuestro tamaño de muestra es pequeño, lo que podría ser la causa de la falta de correlación en nuestros resultados. Investigaciones de Arnold *et al*, mostraron que existe un aumento en la proliferación del trofoblasto en pacientes con preeclampsia. ⁽⁴⁰⁾ En la preeclampsia parece que la lesión al sincitiotrofoblasto puede conducir a una hiperplasia reparadora del citotrofoblasto.

Después de hacer estas observaciones, se realizaron reacciones de inmunoperoxidasa con antígeno Ki-67, encontrando una correlación positiva débil, es decir, a mayor gravedad del estado hipertensivo habrá una mayor expresión de Ki-67, con un coeficiente de correlación de Spearman de 0.208, sin embargo no mostró significancia estadística con una p de 0.422. Jesckhe *et al* encontraron que no había diferencia significativa en la expresión de Ki-67 de las placentas de pacientes con preeclampsia en comparación con placentas normales, pero observaron un aumento significativo en la expresión de este en las pacientes que cursaron con Síndrome de HELLP ⁽³⁸⁾. Encontrando resultados similares en los resultados dados por Thomas *et al*. ⁽⁴¹⁾ y Prusac *et al*. ⁽⁴²⁾. Unek, *et al* reportaron posteriormente que si se encontraba una diferencia significativa en las placentas de pacientes con preeclampsia, encontrando mayor expresión del marcador Ki-67 en estas ⁽³⁵⁾, al igual que Arnholdt *et al* ⁽⁴⁰⁾. Sin embargo, Kaltenbach, *et al* no observaron el aumento de la proliferación celular.

Ekinci A *et al*, encontraron en su estudio sobre la expresión de endotelina 1 y Ki-67 en pacientes con preeclampsia y síndrome de HELLP que las placentas que cursaban con hipertensión grave presentaban proliferación hipertrófica, necrosis fibrinoide, proliferación endotelial, calcificación y manchas de vellosidades hialinas en las células deciduales y degeneración de las células del citotrofoblasto. Jeschke *et al*. (2006) compararon la proliferación del marcador Ki-67 en el tejido trofoblastico de placentas de mujeres que cursaron preeclampsia, con placentas de pacientes sanas y llegaron a la conclusión de que la intensidad en la expresión de Ki-67 fue significativamente diferente entre estas, llegando Ekinci a la misma conclusión, con un incremento en la expresión de Ki-67 en las placentas de pacientes con Preeclampsia y Síndrome de HELLP. ⁽⁴³⁾

En un estudio reciente, en el cual se compara los resultados neonatales en cuatro categorías hipertensivas durante la gestación y pacientes sanas, se ha encontrado mayor índice de prematuridad, bajo peso al nacer y bajo peso para la edad gestacional, peores condiciones al nacimiento y mayor hospitalización en Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales, posterior a cualquier tipo de desorden hipertensivo durante la gestación en comparación con el grupo control. ⁽⁴⁴⁾ En nuestro estudio no se comparó con un grupo control, pero fue interesante constatar y comparar los resultados neonatales según el estado hipertensivo, encontrando significancia estadística en la necesidad de reanimación neonatal avanzada, así como en los días de hospitalización en Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales, es decir, a mayor gravedad del cuadro hipertensivo peores resultados neonatales se encontraron.

Este estudio se encontró con ciertas limitaciones, en primer lugar se examinó un número pequeño de placentas, esto debido a la pandemia Covid-19. En segundo lugar, no se realizó comparación con placentas de pacientes sanas. Dicho esto, aun que nuestro número de placentas estudiados parece ser pequeño, comparando con otros estudios similares, estudiamos un mayor número de placentas de pacientes que cursaron con enfermedad hipertensiva durante la gestación, y clasificamos a las pacientes según el grado de severidad del estado hipertensivo, algo que no se ha realizado en otros estudios.

8. CONCLUSIONES

El porcentaje de expresión del marcador Ki-67 tiene una correlación positiva débil, es decir, a mayor gravedad del estado hipertensivo habrá una mayor expresión de Ki-67. Encontrando significancia estadística en el hallazgo de vasculopatía decidual, relacionándose con estados hipertensivos mas severos. Además en cuanto a los resultados neonatales se encontró que en los cuadros de mayor severidad se correlacionaron con necesidad de maniobras de reanimación avanzadas al nacimiento, así como mayor estancia en Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales.

No logramos encontrar significancia estadística en nuestros objetivos, sin embargo hay que recordar que lamentablemente nuestro tamaño de muestra fue afectado por la pandemia Covid 19. Nuestra población ha sido muy poco estudiada sobre los hallazgos placentarios encontrados en la enfermedad hipertensiva durante la gestación y teniendo en cuenta que somos una población tan diferente a la población americana y europea, que es donde muchas de nuestras guías se basan para dar diagnóstico y manejo a nuestras pacientes, nos parece un análisis importante para abrir una brecha de estudio en donde podamos encontrar quizás otros puntos de corte y probablemente redefinir criterios que se ajusten a nuestro tipo de población, para dar un diagnóstico y tratamiento mas adecuado, así como dar un estrecho seguimiento en aquellas pacientes en las cuales encontramos mayores cambios placentarios, sobre todo pensando en un próximo embarazo, para así intentar aplicar mas medicina preventiva y con esto disminuir los riesgos de morbimortalidad materna y fetal.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Steegers EA, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet* 2010;376:631–44
2. Sarosh Rana, Elizabeth Lemoine, Joey Granger, et al, Preeclampsia Pathophysiology, Challenges and Perspectives, *Circ Res.* 2019;124:1094-1112.
3. *Detección y Diagnóstico de Enfermedades Hipertensivas del Embarazo.* México: Secretaría de Salud, 2010.
4. Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science.* 2005;308:1592–1594. doi: 10.1126/science.1111726
5. Brosens I, Pijnenborg R, Vercruyssen L, Romero R. The “Great Obstetrical Syndromes” are associated with disorders of deep placentation. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;204:193–201. doi: 10.1016/j.ajog.2010.08.009 Bernstein PS, Martin JN Jr, Barton JR, et al. National Partnership for Maternal Safety: consensus bundle on severe hypertension during pregnancy and the postpartum period. *Obstet Gynecol* 2017;130:347–57
6. Falco, M. L., Sivanathan, J., Laoreti, A., Thilaganathan, B., & Khalil, A. (2017). Placental histopathology associated with pre-eclampsia: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, 50(3), 295–301. <https://doi.org/10.1002/uog.17494>
7. Scholzen T, Gerdes J (2000) The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol* 182(3):311–322.
8. Brown MA, Magee LA, Kenny LC, et al. Hypertensive disorders of pregnancy: ISSHP classification, diagnosis, and management recommendations for international practice. *Hypertension* 2018;72:24–43
9. Sibai BM, Stella CL. Diagnosis and management of atypical preeclampsia-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 200:481.e1–7.
10. Jimmy Espinoza, Alex Vidaeff, Christian M. Pettker, et al, Gestational Hypertension and Preeclampsia, ACOG, 2019; Vol. 133, No. 1.

11. Cooray SD, Edmonds SM, Tong S, Samarasekera SP, Whitehead CL. *Characterization of symptoms immediately preceding eclampsia. Obstet Gynecol* 2011;118: 995–9.
12. Romero R, Chaiworapongsa T. *Preeclampsia: a link between trophoblast dysregulation and an antiangiogenic state. J Clin Invest.* 2013; 123:2775– 2777. doi: 10.1172/JCI70431.
13. *Deteccion, digoastico y tratamiento de las enfermedades hipertensas del embargo en los tres niveles de atención, imss 2017*
14. Bartsch E, Medcalf KE, Park AL, Ray JG; High Risk of Pre-eclampsia Identification Group. *Clinical risk factors for pre-eclampsia determined in early pregnancy: systematic review and meta-analysis of large cohort studies. BMJ.* 2016;353:i1753. doi: 10.1136/bmj.i1753
15. Stevens DU, Al-Nasiry S, Bulten J, Spaanderman ME. *Decidual vasculopathy in preeclampsia: lesion characteristics relate to disease severity and perinatal outcome. Placenta.* 2013;34:805-809. doi: 10.1016/j.placenta.2013.05.008.
16. Rabaglino MB, Post Uiterweer ED, Jeyabalan A, Hogge WA, Conrad KP. *Bioinformatics approach reveals evidence for impaired endometrial maturation before and during early pregnancy in women who developed preeclampsia. Hypertension.* 2015; 65:421–429.
17. Rajakumar A, Brandon HM, Daftary A, Ness R, Conrad KP. *Evidence for the functional activity of hypoxia-inducible transcription factors overexpressed in preeclamptic placentae. Placenta.* 2004;25:763–769. doi: 10.1016/j.placenta.2004.02.011.
18. Burton GJ, Hempstock J, Jauniaux E. *Nutrition of the human fetus during the first trimester—a review. Placenta.* 2001;22(suppl A):S70–S77. doi: 10.1053/plac.2001.0639
19. Kanasaki K, Palmsten K, Sugimoto H, Ahmad S, Hamano Y, Xie L, Parry S, Augustin HG, Gattone VH, Folkman J, Strauss JF, Kalluri R. *Deficiency in catechol-O-methyltransferase and 2-methoxyoestradiol is associated with pre-eclampsia. Nature.* 2008;453:1117–1121. doi: 10.1038/nature06951.

20. Bhawana Sahay, Leena Talukdar, Pallavi Sahay, et al, *Comparative study between histological changes in placenta from pre-eclampsia cases and normal pregnancy with special reference to cytotrophoblastic cell hyperplasia, villous stromal fibrosis and fibrinoid necrosis*, *Int J Res Med Sci*. 2016 Nov;4(11):4884-4888.
21. Huang QT, Wang SS, Zhang M, Huang LP, Tian JW, Yu YH, Wang ZJ, Zhong M. *Advanced oxidation protein products enhances soluble Fms- like tyrosine kinase 1 expression in trophoblasts: a possible link between oxidative stress and preeclampsia*. *Placenta*. 2013;34:949–952. doi: 10.1016/j.placenta.2013.06.308
22. Geva E, Ginzinger D, Zaloudek C et al. *Human placental vascular development: Vasculogenic and Angiogenic (Branching and Nonbranching) transformation is regulated by vascular endothelial growth Factor-A, Angiopoietin-1, and Angiopoietin-2*. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(9):4213-4224.
23. Rana S, Powe CE, Salahuddin S, Verlohren S, Perschel FH, Levine RJ, Lim KH, Wenger JB, Thadhani R, Karumanchi SA. *Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia*. *Circulation*. 2012;125:911–919.
24. Esser S, Wolburg K, Wolburg H, Breier G, Kurzchalia T, Risau W. *Vascular endothelial growth factor induces endothelial fenestrations in vitro*. *J Cell Biol*. 1998;140:947–959.
25. Powe CE, Levine RJ, Karumanchi SA. *Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: the role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease*. *Circulation*. 2011;123:2856–2869.
26. Baris Kaya, Umit Nayaki, Cenk Nayki, et al, *Proliferation of trophoblasts and Ki67 expression in preeclampsia*, *Arch Gynecol Obstet*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014, doi 10.1007/s00404-014-3538-4.
27. Genset DR. *Estimating the time of death of stillborn fetuses-II. A study of 71 stillborns*. *B J Obst Gynaecol*. 1992;80:585-92.
28. Terry K. Morgan and W. Tony Parks. *Pregnancy- Induced Uterine Vascular Remodelling and the Pathophysiology of Decidual Vasculopathy*. En T. Yea Khong, editor. *Pathology of the Placenta*. Australia: Springer; 2019, p. 221 - 230.

29. Rebecca N. Baergen. *Placental Maternal Perfusion*. En: Kurt Benirschke, MD. *Manual of Pathology of the Human Placenta. Second Edition*. Springer LLC, New York 2011, p. 335 - 353.
30. Debra Goldman- Wohl, Simcha Yagel. *Regulation of trophoblast invasion: from normal implantation to pre-eclampsia*. *MCE*, 187 (2002) 233-238.
31. CG Predoi, et al. *Placental damages in preeclampsia - from ultrasound images to histopathological findings*. *J Med Life*. 2015; 8(Spec Issue): 62-65.
32. Samantha E. Parker, et al. *Placental Abruption and Subsequent Risk of Preeclampsia: A Population-Based Case-Control Study*. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2015 May; 29(3): 211-219.
33. Carlos G Briones, José Meneses, Armando A Moreno, et al, *Preeclampsia: una nueva teoría para un viejo problema*, *Rev Asoc Mex Med Crit y Ter Int* 2008;22(2):99-104.
34. Sun, X., & Kaufman, P. D. (2018). *Ki-67: more than a proliferation marker*. *Chromosoma*, 127(2), 175–186. <https://doi.org/10.1007/s00412-018-0659-8>
35. Unek G, Oxmen A, Mendilcioglu I, Simsek M, Korgun ET (2014) *The expression of cell cycle related proteins PCNA, Ki67, p27 and p57 in normal and preeclamptic human placentas*. *Tissue Cell* 46:198–205
36. Bulmer JN, Morrison L, Johnson PM. *Expression of the proliferation markers Ki67 and transferrin receptor by human trophoblast populations*. *J Reprod Immunol* 1988;14:291Y 302.
37. Evain-Brion D, Malassine A. *Human placenta as an endocrine organ*. *Growth Horm IGF Res* 2003;13(suppl A):S34Y7.
38. Udo Jeschke. *Expression of the proliferation marker Ki-67 and of p53 tumor protein in trophoblastic tissue of preeclamptic, HELLP, and intrauterine growth-restricted pregnancies*, 2006 *International Journal of Gynecological Pathology*, 15: 354-360.
39. Stanek J. *Histological features of shallow placental implantation unify early-onset and late-onset preeclampsia [published online October 9, 2018]*. *Pediatr Dev Pathol*. doi: 10.1177/1093526618803759
40. Arnholdt H, Meisel F, Fandrey K, et al. *Proliferation of villous trophoblast of the human placenta in normal and abnormal pregnancies*. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 1991; 60:365 Y 72.

41. Thomas SZ, Prusac IK, Roje D, Tadin I (2011) Trophoblast apoptosis in placentae from pregnancies complicated by preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 71(4):250-255.
42. Prusac IK (2011) Zekic Tomas S, Roje D. Apoptosis, proliferation and Fas ligand expression in placental trophoblast from pregnancies complicated by HELLP syndrome or preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 90(10):1157-1163
43. Ekinci, A., Aktas, A., Dönder, A., Ekinci, C., Turgut, A., Deveci, S., & Deveci, E. (2018). Expression of Endothelin-1 and Ki-67 in Normotensive and Severe Preeclamptic Placentas. *International Journal of Morphology*, 36(1), 109–112. <https://doi.org/10.4067/s0717-95022018000100109>