



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

OBSTETRICIA Y GINECOLOGIA

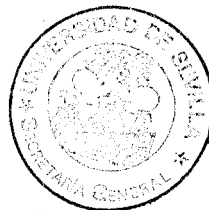
ESTUDIO HISTOQUIMICO DE LAS
CORIOAMNIONITIS MEDIANTE LA TECNICA DE
LA DIAMINOBENCIDINA-CLORURO DE
COBALTO.

AUTOR: Antonio Jiménez Caraballo

DIRECTOR: José Luis Dueñas Díez

19 de Mayo de 1988

T.D.
5/20



ESTUDIO HISTOQUIMICO DE LAS CORIOAMNIONITIS MEDIANTE LA TECNICA
DE LA DIAMINOBENCIDINA-CLORURO DE COBALTO



UNIVERSIDAD DE SEVILLA
SECRETARIA GENERAL

Queda registrado esta Tesis Doctoral
al folio 113 número 5 del libro
correspondiente.
Sevilla, 31 MAYO 1938

El Jefe del Negociado de Tesis.

F. Daffille

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Depositado en
de la
de esta Universidad desde el día
hasta el día
Sevilla de de 19
EL DIRECTOR DE



FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGIA

SEVILLA

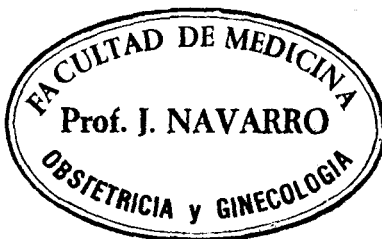
JOSE LUIS DUEÑAS DIEZ, PROFESOR TITULAR DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA,

C E R T I F I C A :

Que el trabajo titulado " Estudio histoquímico de las corioamnionitis mediante la técnica de la Diaminobencidina Cloruro de Cobalto", presentada por Dº. ANTONIO JIMENEZ CARABALLO para aspirar al grado de Doctor, ha sido realizada bajo mi dirección.

Para que así conste, firmo la presente en Sevilla, a diecinueve de Mayo de mil novecientos ochenta y ocho.

Fdo: Prof. J.L. Dueñas Díez





FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGIA

PROF. J. NAVARRO

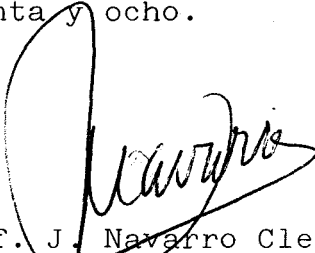
SEVILLA

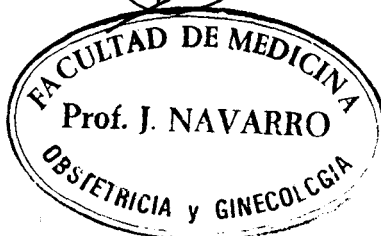
JOSE NAVARRO CLEMENTE, CATEDRATICO Y JEFE DEL DEPARTAMENTO DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA / UNIVERSIDAD DE SEVILLA,

C E R T I F I C A :

Que el trabajo titulado " Estudio histoquími-
co de las corioamnionitis mediante la técnica de la Diamino--
bencidina Cloruro de Cobalto" ha sido realizada íntegramente
en nuestro Departamento por el D^o. ANTONIO JIMENEZ CARABALLO
bajo la dirección del Prof. Dr. JOSE LUIS DUEÑAS DIEZ.

Firmo la presente en Sevilla, a diecinueve /
de Mayo de mil novecientos ochenta y ocho.


Fdo: Prof. J. Navarro Clemente



A Lola, Carlos y Alvaro

A mis padres

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco al Prof. D. José Navarro, jefe del Departamento de Ginecología y Obstetricia, la confianza depositada en este trabajo y su ayuda para el desarrollo de un laboratorio de investigaciones placentarias. Sin ello, la realización de este estudio no habría sobrepasado la mera especulación teórica.

Al Prof. D. José Luis Dueñas, amigo y director de esta tesis, le doy las gracias por estos tres años de trabajo e investigación, en estrecha y agradable cooperación.

He de corresponder también a la amable ayuda prestada por el Departamento de Anatomía Patológica, encabezado por el Prof. D. Hugo Galera, y en especial, al Servicio de Genética, en donde se han desarrollado la mayor parte de las experiencias de este estudio. Gracias a la Dra. Martínez Novoa y a la Dra. Martín Lacave, en representación de este magnífico Servicio.

Igualmente, agradezco a D. Juan Polo, profesor titular de Estadística de la Facultad de Medicina, y al Dr. D. Javier Vega, del Servicio de Neonatología, su experta colaboración en la informatización y el tratamiento estadístico de los datos.

A los doctores Rodríguez Donoso, Triana Ponce y Durán de Vargas, les doy las gracias por su cooperación en la recogida de los datos clínicos y agradezco, en particular, la dedicación y enseñanzas en el manejo del microtomo, al Dr. D. Anto

nino Parrilla y a Dolores Jiménez, citotécnica del laboratorio | de Genética. También he de corresponder a la aportación instru- | mental de D. Carlos López Reguero, sin la que no hubiese podido | escribir estas líneas.

Finalmente, y para no olvidar a nadie, agradezco a todas aquéllas personas que desinteresadamente me ayudaron a la realización de este trabajo.

Sevilla, a veinticinco de Mayo de mil novecientos ochenta y ocho.

INDICE

	pag.
I. INTRODUCCION	1
1.1 EPIDEMIOLOGIA DE LA CORIOAMNIONITIS	4
1.2 ETIOPATOGENIA	7
1.2.1 CELULAS INMUNITARIAS PRESENTES EN LA PLACENTA HUMANA NORMAL	8
1.2.2 VIAS DE INFECCION DE LA PLACENTA HUMANA	9
1.2.2.1 INFECCIONES ASCENDENTES	11
1.2.2.2. INFECCIONES HEMATOGENAS	13
1.2.3 FACTORES ETIOPATOGENICOS	19
1.2.3.1 ROTURA PREMATURA DE MEMBRANAS	19
1.2.3.2 COITO	
1.2.3.3 CIRUGIA CERVICAL. CERCLAJE	26
1.2.3.4 DISMINUCION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL LIQUIDO AMNIOTICO	27
1.2.3.5 VARIACIONES DEL PH VAGINAL	28
1.2.3.6 PARTO PROLONGADO	28
1.2.3.8 EXPLORACION ENDOUTERINA	29
1.3 DIAGNOSTICO	29
1.3.1 DIAGNOSTICO CLINICO	29
1.3.2 DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO	34
1.3.2.1 ESTUDIO MICROBIOLOGICO DEL LIQUIDO AMNIOTICO	34
1.3.2.2 CULTIVO DEL CONDUCTO CERVICAL	36
1.3.2.3 CULTIVO DE LA PLACENTA	36
1.3.3 DIAGNOSTICO BIOQUIMICO	40

	pag.
1.3.3.1 DETERMINACIONES EN LA SANGRE MATERNA	40
1.3.3.3 DETERMINACIONES EN LIQUIDO AMNIOTICO	44
1.3.4 DIAGNOSTICO HISTO-PATOLOGICO	46
1.3.4.1 CLASIFICACION DE LAS CORIOAMNIONITIS	49
1.3.4.2 DECIDUITIS	54
1.3.4.3 OTROS HALLAZGOS HISTO-PATOLOGICOS	55
1.4 ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA	60
 II. HIPOTESIS DE TRABAJO	 61
 III. MATERIAL	 64
3.1 GRUPOS DE ESTUDIO	64
3.2 CARACTERISTICAS CLINICAS DE LAS GESTANTES ESTU- DIADAS	66
3.2.1 EDAD	66
3.2.2 ANTECEDENTES OBSTETRICOS	66
3.2.3 EDAD GESTACIONAL	70
3.2.4 FIEBRE INTRAPARTO	70
3.2.5 DURACION DEL PARTO	70
3.2.6 TIPO DE PARTO	72
3.2.7 SUFRIMIENTO FETAL, PRESENCIA DE MECONIO Y DE FIEBRE INTRAPARTO	74
3.2.8 TIPO DE ALUMBRAMIENTO	78
3.2.9 COMPLICACIONES PUERPERALES	78
3.2.10 COMPLICACIONES NEONATALES	79

	pag.
IV. METODO	84
4.1 METODO DE SELECCION DE LAS PACIENTES	84
4.1.1 CRITERIOS DE CLASIFICACION DE LAS GESTAN- TES EN GRUPOS DE ESTUDIO	84
4.1.2 METODO DE RECOGIDA DE DATOS CLINICOS	85
4.1.3 METODOLOGIA DE ESTUDIO CLINICO DE LAS GES- TANTES SELECCIONADAS	87
4.1.4 METODOLOGIA DE ESTUDIO CLINICO DEL NEONA- TO	88
4.1.5 TERAPEUTICA ANTE E INTRAPARTO	89
4.2 METODOLOGIA DE RECOGIDA DE LAS MUESTRAS	94
4.2.2 OBTENCION DE LOS CORTES HISTOLOGICOS	96
4.3 METODO DE ESTUDIO DE LOS CORTES HISTOLOGICOS	97
4.3.1 HEMATOXILINA-EOSINA	97
4.3.2 METODO DE LA DIAMINOBENCIDINA TETRAHIDRO- CLORICA-CLORURO DE COBALTO	98
4.3.2.1 RELACION ENTRE LA TECNICA DAB-Cl ₂ Co Y LOS ACIDOS NUCLEICOS	100
4.3.2.2 RELACION ENTRE LA TECNICA DE LA DAB- Cl ₂ Co Y LAS ENDOPEROXIDASAS	109
4.3.2.3 TECNICA DE LA DAB-Cl ₂ Co APLICADA AL ESTUDIO DE LA PLACENTA HUMANA FIJADA EN PARAFINA	111
4.3.2.4 UTILIDAD DE LA TECNICA DE LA DAB-Cl ₂ Co PARA EL RECUENTO DE LOS LEUCOCITOS EN LA PLACENTA HUMANA: COMPARACION CON LA TECNICA DE LA HEMATOXILINA-EO- SINA	114

	pag.
4.4 METODO DE ESTUDIO DE LA FORMULA LEUCOCITARIA SANGUINEA	115
4.5 METODO DE OBTENCION DE LOS RESULTADOS EN ESTUDIO HISTO-PATOLOGICO	115
4.6 METODO DE ANALISIS DE DATOS	117
4.7 METODO FOTOGRAFICO	118
 V. RESULTADOS	 119
5.1 HALLAZGOS HISTO-PATOLOGICOS	119
5.1.1 HALLAZGOS DEL ESTUDIO MORFOLOGICO DE LAS PLACENTAS	119
5.1.1.1 NUDOS SINCITIALES	119
5.1.1.2 MEMBRANAS VASCULO-SINCITIALES	121
5.1.1.3 NECROSIS FIBRINOIDE	124
5.1.1.4 NUMERO DE VASOS SANGUINEOS FETALES EN LAS VELLOSIDADES TERMINALES	124
5.1.1.5 EDEMA VELLOSIARIO	126
5.1.2 HALLAZGOS MORFOLOGICOS EN LAS MEMBRANAS OVULARES	126
5.1.2.1 AMNIOS: GRADO DE MADUREZ DEL EPITELIO	128
5.1.2.2 CORION	131
5.1.3 HALLAZGOS MORFOLOGICOS EN LA DECIDUA PARIETAL	131
5.2 RECUENTO LEUCOCITARIO	134

	pag.
5.2.1 RECUENTO LEUCOCITARIO EN LA PLACENTA	135
5.2.1.1 POLIMORFONUCLEARES	135
5.2.1.2 MONOCITOS	141
5.2.1.3 LINFOCITOS	146
5.2.2 RECUENTO LEUCOCITARIO EN LAS MEMBRANAS OVULARES	148
5.2.3 RECUENTO LEUCOCITARIO EN EL CORDON UM BILICAL	151
5.2.4 RECUENTO Y FORMULA LEUCOCITARIA EN LA SANGRE MATERNA EN EL MOMENTO DEL PARTO	151
5.2.5 RECUENTO Y FORMULA LEUCOCITARIA FETAL EN EL MOMENTO DEL NACIMIENTO	153
5.2.6 ANALISIS CONJUNTO DE LOS RESULTADOS POR GRUPOS DE ESTUDIO	161
5.2.6.1 GRUPO DE CONTROL	161
5.2.6.2 GRUPO I	165
5.2.6.3 GRUPO II	168
5.2.6.4 GRUPO III	168
5.2.6.5 GRUPO IV	171
5.2.6.6 GRUPO V	174
5.2.6.7 ANALISIS COMPARATIVO DE LOS GRUPOS DE PARTOS A TERMINO	174
5.2.6.8 GRUPO VI	179
5.2.6.9 GRUPO VII	183
5.2.6.10 ANALISIS COMPARATIVO DE LOS GRUPOS DE GESTACIONES PRETERMINO	186
5.3 CORIOAMNIONITIS HISTOLOGICAS	188



5.3.1 CLASIFICACION DE LAS CORIOAMNIONITIS: GRADOS HISTOLOGICOS	188
5.3.2 CLASIFICACION DE LAS CORIOAMNIONITIS: ESTADIOS HISTOLOGICOS	190
5.4 RELACION ENTRE LA CORIOAMNIONITIS HISTOLOGICA Y DIFERENTES PARAMETROS CLINICOS	190
5.4.1 EDAD Y PARIDAD	192
5.4.2 EDAD GESTACIONAL	192
5.4.3 EMPLEO DE ANTIBIOTICOS, CORTICOIDES Y BETAMIMETICOS	192
5.4.4 INDUCCION DEL PARTO	193
5.4.5 FIEBRE MATERNA ANTEPARTO	193
5.4.6 DURACION DEL PARTO	193
5.4.7 PRESENCIA DE LIQUIDO AMNIOTICO MECONIAL	194
5.4.8 FIEBRE MATERNA INTRAPARTO	194
5.4.9 DURACION DEL PERIODO DE ALUMBRAMIENTO Y MECANISMO DE DESPRENDIMIENTO PLACENTARIO	194
5.4.10 SEXO Y PESO DEL RECIEN NACIDO	195
5.4.11 TEMPERATURA DEL NEONATO EN EL MOMENTO DEL NACIMIENTO	195
VI. DISCUSION	198
6.1 METODO	198
6.2 RESULTADOS	202
6.2.1 HALLAZGOS HISTO-PATOLOGICOS	202
6.2.1.1 ESTUDIO MORFOLOGICO DE LAS PLACENTAS	202

	pag.
6.2.1.2 ESTUDIO MORFOLOGICO DE LAS MEMBRANAS OVULARES	209
6.2.2 RECUENTO LEUCOCITARIO	211
6.2.2.1 RECUENTO LEUCOCITARIO EN LA PLACENTA	212
6.2.2.2 RECUENTO LEUCOCITARIO EN LAS MEMBRANAS OVULARES	217
6.2.2.3 RECUENTO LEUCOCITARIO EN EN EL CORDON UMBILICAL	218
6.2.2.4 RECUENTO Y FORMULA LEUCOCITARIA EN LA SANGRE MATERNA Y FETAL	219
6.2.3 ANALISIS CONJUNTO POR GRUPOS DE ESTUDIO	221
6.2.3.1 EMBARAZOS A TERMINO	221
6.2.3.2 EMBARAZOS PRETERMINOS	225
6.2.4 CORIOAMNIONITIS Y PARAMETROS CLINICOS	225
VII. CONCLUSIONES	230
VIII. RESUMEN	234
IX. BIBLIOGRAFIA	239

INDICE DE ABREVIATURAS

ADN: Acido desoxirribonucleico

ARN: Acido Ribonucleico

BR: Bolsa rota

CPC: Control de parto cesárea

CPV: Control de parto vaginal

DAB-Cl₂Co: Diaminobencidina-Cloruro de Cobalto

FUR: Fecha de la última regla

H-E: Hematoxilina-Eosina

HL-A: Antigenos de histocompatibilidad leucocitarios

IgM: Inmunoglobulina tipo M

LDH: Láctico deshidrogenasa

LSD: test estadístico de comparaciones múltiples

Lpm: Latidos por minuto

Ml: Mililitro

MVS: Membranas vâsculo-sincitiales

PMN: Leucocitos polimorfonucleares

RN: Recién nacido

RPBA: Rotura prematura de la bolsa amniótica

RPM: Rotura prematura de las membranas

TORCH (síndrome): Toxoplasmosis, Rubeola, Citomegalovirus y Herpes.

INTRODUCCION

La infección bacteriana del líquido amniótico es causa frecuente de muerte perinatal en las sociedades industriales, con niveles particularmente altos de frecuencia en los grupos menos privilegiados (20). Se caracteriza por un proceso inflamatorio difuso agudo en las membranas, la placenta, la decidua y el cordón umbilical. Reciben el nombre genérico de corioamnionitis, ya que su localización primaria es el corion y el amnios de las membranas extraplacentarias. La evolución del síndrome es variable, pudiendo limitarse a una respuesta inflamatoria leve en las membranas extraplacentarias sin influencia aparente sobre el pronóstico del embarazo. Otras veces, sus efectos son más graves: muerte fetal intraútero, parto pretérmino, infecciones neonatales e, incluso, afectación del desarrollo psicomotor del lactante (81, 56, 157).

Bajo los términos de corioamnionitis e infección amniótica (utilizados como sinónimo por la mayoría de los autores) se han agrupado conceptos muy diferentes según hayan sido empleados por los clínicos, los microbiólogos o los anatomopatólogos (80).

Desde el punto de vista estrictamente clínico, la corioamnionitis ha sido definida (55) como la asociación

en una gestante de fiebre, taquicardia materno-fetal, dolor uterino a la palpación, amenaza de parto prematuro, leucocitosis materna y olor fétido del líquido amniótico y/o del recién nacido, siempre que se haya descartado previamente la existencia de una infección extrauterina.

Cuando el término es empleado desde el punto de vista microbiológico, hace referencia de forma exclusiva a aquellas gestantes que presentan o un líquido amniótico, que al ser cultivado manifiesta un crecimiento bacteriano superior a 100 colonias por mililitro o bien, la presencia de bacterias en un frotis teñido con la técnica de Gram (118). No obstante, para GARITE (65), la presencia de más de 100 col/ml en cultivos de líquido amniótico, no siempre se relaciona con la aparición posterior del síndrome clínico.

Finalmente, la corioamnionitis histopatológica ha sido definida (63) como el acúmulo de leucocitos polimorfonucleares en el espacio subcorial y en las membranas. Dada la inespecificidad de los criterios histológicos seguidos en su definición, los resultados comunicados por los diferentes autores en cuanto a la incidencia, presentan grandes variaciones (60).

(TABLA 1.1)

TABLA 1.1

INCIDENCIA DE CORIOAMNIONITIS Y FUNICULITIS

Autor	Número de placentas	% de corio-amnionitis	% de funi-culitis
Creadick (1920)	2000	-	2,15
Siddall (1927)	1000	-	6
Siddall (1928)	1000	4,8	-
Beckmann y Zimmer (1931)	420	-	18,3
Kückens (1938)	600	16,2	-
Benirschke y Clifford (1959)	1300	12,7	10
Benirschke (1960)	1536	19	11
Domínguez, Segal y O'Sullivan (1960)	986	-	24,8
Emig, Napier y Brazie (1961)	709	13,3	10,3
Meyer y Welento (1962)	176	-	14,8
Fujikura y Benson (1963)	304	23,2	12,5
Laukienicki, Meyer y Welento (1963)	516	-	10,5
Pisarki, Breborowicz y Przbora (1963)*	1697	17	12,2
Kunnas y Lauslahti (1964)	1114	5,2	9,9
Robinson y cols. (1965)	591	16,2	20
Maudsley y cols. (1966)	494	27,1	17
Kelsall, Barter y Manessis (1967)	200	38,9	19,2
Pisarki y cols. (1967)	444	48,8	38,3
White y Longnecker (1967)	1038	-	22,8
Overbach, Daviel y Cassady (1970)*	351	-	39
Fox y Langley (1971)	1000	24,4	6,6
Pryse-Davies, Beasley y Leach (1973)	238	28	11
Bader y cols. (1975)*	390	31	-
Kérisit y cols. (1975)	194	-	15

* Incluyen solamente los casos de alto riesgo

Tomado de FOX (60)

1.1 EPIDEMIOLOGIA DE LA CORIOAMNIONITIS

La frecuencia de aparición de la corioamnionitis, desde el punto de vista clínico, oscila entre el 0,54 % y el 1 % (94,105). Los factores epidemiológicos que influyen, tanto en su frecuencia de aparición como en las cifras comunicadas por los diferentes autores son, fundamentalmente, las variaciones del estado socio-económico de la población estudiada, las prácticas culturales, los factores genéticos y la raza.

NAEYE (132), en un amplio estudio multicéntrico, demostró cómo la mayoría de las pacientes con infecciones amnióticas procedían de un estrato social bajo. Según SHURIN y cols. (181) y MC CORMACK y cols. (111) existe una elevada correlación entre la corioamnionitis y algunas enfermedades de transmisión sexual, hasta tal punto de que los primeros autores han aislado *Ureaplasma urealyticum* con una frecuencia dos veces superior en recién nacidos procedentes de gestaciones complicadas con corioamnionitis, respecto de un grupo control.

Para algunos autores (63,196,161), existen factores genéticos que predisponen a una mayor incidencia de infecciones amnióticas y neonatales. Según RHODES (161) podrían estar relacionados con la presencia en el cromosoma X del locus del gen responsable de la síntesis de IgM. Por otra parte, GAMSU

(63) y WASHBURN (196) han establecido, además, una relación con el sexo, puesto que en sus casuísticas demuestran como los varones presentan una mayor susceptibilidad de padecer corioamnionitis.

La malnutrición crónica parece desempeñar un papel favorecedor en el desarrollo de las infecciones intrauterinas. Así, TAFARI y cols. (187) encontraron una mayor incidencia de amnionitis y de retardos del crecimiento en recién nacidos etíopes respecto de los neonatos de las poblaciones industrializadas. Para estos mismos autores (187), la función uterina crónicamente deficiente podría disminuir la acción protectora de las membranas y ser la causa de la alteración del crecimiento fetal.

La incidencia de la corioamnionitis histológica es muy superior a la frecuencia de aparición del síndrome clínico, oscilando según los diferentes autores entre el 4,8 % y el 48,8 % (180,150) de todos los partos (TABLA 1.1). De estas diferencias se deduce que tan sólo en uno de cada treinta casos de corioamnionitis histológica se asocia el cuadro clínico. Las grandes variaciones comunicadas por los autores que se han ocupado de estudiar este problema se deben, según FOX (60) a los siguientes factores:

* Grandes diferencias metodológicas en el exa

men de la placenta y de las membranas. Algunos autores (35,179,101) han realizado el diagnóstico estudiando exclusivamente el cordón umbilical. Según FOX (60), si se tiene en cuenta que la afección onfálica es siempre una fase tardía de la corioamnionitis, las frecuencias comunicadas por estos autores serían indebidamente bajas. Así pues, sólo el 6,6 % de las infecciones amnióticas presentan angeftis umbilical y tan sólo el 3,7 % presentan una funiculitis asociada.

* Variación en el concepto histopatológico |
de la corioamnionitis. El criterio para reconocer los procesos |
 inflamatorios ha sido muy variable de unos autores a otros, ya |
 que puede considerarse signo de inflamación desde la existencia |
 de leucocitos aislados en las membranas hasta la presencia de un |
 infiltrado inflamatorio marcado.

* Inclusión de inflamación decidual. Algunos
 autores, como CHELLAM (36), incluyen dentro de las corioamnioti-
 tis aquellos casos en que aparece infiltrado inflamatorio en la
 decidua y la placa basal, reportando pues, cifras más altas que
 el resto.

* El estado socio-económico de la población
estudiada, ya que puede influir en las diferencias de aparición
 de la infección clínica.

* Los diferentes criterios terapeuticos obstétricos.

1.2 ETIOPATOGENIA

Desde el punto de vista histológico, la corioamnioitis se caracteriza por la existencia de una reacción inflamatoria inespecífica (infiltrado inflamatorio) que no permite precisar el agente causal. De hecho, existen una serie de datos que apuntan hacia la posible existencia de causas no infecciosas en la génesis de este cuadro. DOMINGUEZ y cols. (44) han comunicado la existencia de lesiones similares a las producidas en casos de corioamnioitis infecciosas en placentas procedentes de gestaciones complicadas con meconio, acidosis, inyección hipertónica salina, asfixia y muerte neonatal.

Por su parte, NAEYE (128) no pudo demostrar que la asfixia produjera estos cambios histológicos.

Experimentalmente, LAUWERYN y cols. (102) demostraron que tras la introducción de gérmenes procedentes del canal del parto humano, tales como Streptococcus faecalis, Escherichia coli y Staphilococcus aureus, en conejos, se producían todos los signos histológicos de corioamnioitis. Por el contrario, nunca se reprodujeron cuando estos autores empleaban irritantes

no infecciosos (meconio humano, desechos celulares de conejo, | jugo gástrico, ácidos y tinta china).

Para NAEYE (128), la etiología fundamental de las corioamnionitis sería la infecciosa. Sin embargo, DRISCOL y cols. (45) y PHILIPPE y cols. (148) opinan que la mayor parte de las deciduocorioamnionitis -es decir, la presencia de in- | filtrados leucocitarios en la decidua y la placa basal- serían | la expresión de la quimiotaxis producida por las necrosis foca - les existentes en esos compartimentos al final de la gestación | normal, y que darían lugar a la presencia de macrófagos cuyo ob- | jectivo sería fagocitar los detritus resultantes (198). En cual- | quier caso, NAEYE y DRISCOLL hablan de procesos diferentes, a pe- | sar de emplear el mismo término.

1.2.1 CELULAS INMUNITARIAS PRESENTES EN LA PLACENTA HUMANA NORMAL

En la placenta humana normal a término pue- | den localizarse todas las células inmunitarias existentes en el | adulto. Sin embargo, no está aún bien establecida su función a | nivel local, la transferencia de estas células a través de la ba- | rraera placentaria y, ni siquiera, el límite cuantitativo que esta- | blece la frontera entre lo normal y lo patológico, así como su |

localización en los diferentes compartimentos placentarios.

De todas estas células inmunitarias existentes, los macrófagos componen la mayor población de la placenta (30,135). Se encuentran en tres localizaciones: en el estroma vellositario (células de Hoffbauer), en los septos fibrosos que se extienden desde la placa coriónica y el tejido conectivo subyacente al epitelio del amnio-corion, y en la zona de anclaje de la placenta (vellosidades de anclaje)(159).

Si bien las funciones locales de estos macrófagos no son bien conocidas, en la actualidad se sabe que en el embarazo a término, dichos macrófagos están activados. Para SUTTON y cols. (184), estas células iniciarían la respuesta inmune del feto, estimulando a los linfocitos T fetales. Por otra parte, según MOSKALEWSKI (125), los macrófagos placentarios tienen capacidad de fagocitar, portar receptores para la fracción Fc de las inmunoglobulinas tipo G y estimular la proliferación de los linfocitos maternos. Actualmente, se piensa que una de sus funciones en el interior de las vellosidades sería la de atrapar y depurar los inmunocomplejos formados por los anticuerpos maternos y los antígenos fetales existentes en las vellosidades coriales.

1.2.2 VÍAS DE INFECCIÓN DE LA PLACENTA HUMANA

NA

BENNIRSCHE (20) estableció siete vías de

entrada de gérmenes a la cavidad amniótica:

* Transcervical o ascendente: empleada por gérmenes que ascienden de la vagina o del cérvix, generalmente | tras la rotura de las membranas ovulares.

* Hematógena: los gérmenes alcanzan directamente la placenta procedentes de la sangre materna.

* Parietal: consiste en el paso de microorganismos desde un foco infeccioso situado en el endometrio.

* Transtubárica, ya sea en presencia de una pelviperitonitis o una salpingitis.

* Transparietal: es siempre yatrógena. Los | gérmenes se introducen mediante punción transabdominal al realizar una amniocentesis (112 , 78 , 13 , 91), transfusión intrauterina (176) o inyección intraamniótica salina.

* Retrógrada: los microorganismos proceden | del feto. La infección fetal puede deberse a la transfusión intrauterina de sangre infectada.

* Espermática: como resultado de la fertili

zación del huevo por un espermatozoide infectado. Esta es la única vía que, en la actualidad todavía no se ha demostrado, aunque el núcleo del espermatozoide podría fácilmente transportar un provirus.

En la práctica, son las dos primeras vías las más importantes.

1.2.2.1 Infecciones ascendentes

Esta vía es utilizada fundamentalmente por los gérmenes de la flora intestinal que contaminan la vagina y el cérvix, los cuales incrementan el riesgo de infección cuando se produce la rotura de las membranas ovulares. La mayor parte de las corioamnionitis infecciosas son causadas por gérmenes que utilizan esta vía de entrada y que, según GAMSU (63) son Escherichia coli, Streptococcus faecalis, Proteus, Klebsiella, Pseudomonas, Staphilococcus, Streptococcus, Pneumococcus, Listeria y Candida.

En las amnionitis ascendentes, la cronología de los cambios histológicos es la siguiente: en primer lugar aparece un infiltrado de leucocitos polimorfonucleares en el polo inferior de las membranas ovulares. Posteriormente, se produce un acúmulo de leucocitos en el espacio intervelloso, inmediatamente por debajo de la placa corial. Este agregado es lo que FOX () ha denominado "intervellositis subcorial". Finalmente,

los leucocitos se van extendiendo por la placa corial, siendo muy poco frecuente que se afecten las vellosidades o los espacios intervellosos inferiores. Hasta esta etapa, la respuesta es puramente materna.

La reacción fetal se expresa mediante una respuesta inflamatoria en los vasos de la superficie fetal de la placenta y, posteriormente, en los del cordón umbilical, afectándose en primer lugar la vena y luego las arterias. Dicha arteritis se caracteriza porque la emigración a través de los vasos fetales no es concéntrica, sino que está orientada hacia el lugar de producción de quimiotoxinas, esto es, la cavidad amniótica. Además, está limitada a los vasos de la placa corial y nunca penetra en el interior de la placenta. De la misma manera, la vasculitis no penetra dentro del feto. El estadio final de la corioamnionitis es el paso de neutrófilos hacia la gelatina de Wharton-funiculitis-, la cual en muchas ocasiones es focal, pudiendo estar limitada al área del cordón más próxima al orificio cervical interno.

El feto puede ser infectado por el paso de gérmenes desde el líquido amniótico en el que proliferan con gran facilidad. Sin embargo, no esta la única vía, ya que en muchos casos la infección se extiende hasta la capa basal de la decidua, desde la cual las bacterias pasan a la sangre del espacio inter-

veloso, dando lugar, según PHILIPPE (148) a una "placentitis" y secundariamente, a un paso de gérmenes al compartimento fetal . Se admite hoy que esta vía deciduo-hematogeno-fetal es utilizada por los microorganismos con una frecuencia similar a la difusión directa desde el líquido amniótico. De hecho, COOPERMAN y cols . (33) han aislado gérmenes con una frecuencia similar tanto en la decidua como en las membranas y el líquido amniótico de las pacientes con corioamnionitis.

Sin embargo, la existencia de una corioamnionitis no implica necesariamente una infección fetal ni la presencia de membranas intactas es una garantía absoluta de protección frente a las infecciones ascendentes. Así, MILLER (119) aisló diversos gérmenes del líquido amniótico en mujeres con membranas intactas y HAMMED (79) demostró en su casuística, como el 15 % de los casos de parto pretérmino con membranas íntegras mostraba evidencias de infección amniótica y eran refractarios a la terapia con tocolíticos.

1.2.2.2 Infecciones hematógenas

La placenta intacta es una barrera eficiente frente a multitud de gérmenes; sin embargo, la aparición de una sepsis, bacteriemia materna o la existencia de una endometri

tis puede dar lugar a una vellositis (4), por el paso de los | microorganismos al torrente circulatorio fetal, e incluso, a una placentitis (148). Los microorganismos responsables de placentitis o villitis hematógenas son muy numerosos (TABLA 1.2) e incluyen, además de bacterias, a gran número de virus, protozoos y hongos. Según RUSSELL (168) la mayoría (98 %) de las vellositis son de origen desconocido.

En los humanos, este tipo de infección placentaria es poco frecuente, oscilando entre el 1 % y el 6 % (93 , 97). Se caracteriza porque afecta sobre todo al parénquima placentario más que a las membranas, las cuales pueden verse envueltas en el infiltrado inflamatorio en estadios tardíos de la infección. El punto guía es la aparición de una inflamación vellositaria, denominada vellositis o villitis, caracterizada por la presencia de un infiltrado celular intravellositario de origen | fetal, con ausencia de infiltrado leucocitario de origen materno. Puede tratarse de una afección focal o difusa, interesando a muchas vellosidades contiguas, en cuyo caso PHILIPPE (148) prefiere utilizar el término de placentitis.

Desde el punto de vista histo-patológico , ALTSHULER (5) ha diferenciado cuatro tipos de vellositis:

*Proliferativas: Se caracterizan por la presencia de un infiltrado inflamatorio intravellositario sin necro

TABLA 1.2ORGANISMOS PRODUCTORES DE INFECCIONES TRANSPLACENTARIAS (HEMATOGENAS)

<u>VIRUS</u>	<u>BACTERIAS</u>	<u>MISCELANEA</u>
Cytomegalovirus	Bacteria enterica	Toxoplasma
Rubeola	Staphylococcus	Candida
Hepatitis	Streptococcus	Mycoplasma
Herpes simplex	Pneumococcus	Plasmodium
Varicela zoster	Listeria	Tripanosomas
Viruela	Treponema	
Parotiditis	Vibrio fetus	
Sarampión	Vibrio cholerae	
Coxsackie	Salmonellas typhi	
Poliomielitis	Borrelia	
Encefalitis equina	Mycobacterium tuberculosis	

Tomado de GAMSU (63)

sis.

* Necrotizantes: caracterizadas por la asociación de infiltrado inflamatorio intravellositario y necrosis.

* Reparativas: el proceso inflamatorio vellositario se asocia con la formación de tejido de granulación y proliferación fibroblástica.

* Fibrosis estromal: las vellosidades se encuentran fibróticas y retraídas pero muestran escasa o ninguna evidencia de un proceso inflamatorio activo.

PHILIPPE (148) prefiere emplear el término de villitis y lo clasifica en función del tipo celular predominante en el infiltrado inflamatorio intravellositario, en:

* Villitis linfocitaria: (o predominantemente linfocitaria) que representa el 10 % del total y se caracteriza por una localización basal o parabasal asociada a una deciduitis linfocitaria basal y parietal. Los infiltrados linfocitarios o linfo-plasmocitarios no alteran prácticamente ni el corion de las vellosidades ni los capilares.

* Villitis monocitaria macrofágica: (histiocitaria, predominantemente monocitaria) Representa el 90 % de todas las villitis. Se caracteriza por presentar una distribución difusa con escasa o nula afectación decidual. Se asocia a la existencia de depósitos de fibrina que aglutinan las vellosidades ad

yacentes. Este tipo de villitis conduce a una atrofia hialina |
acelular asociada a una oclusión de los vasos proximales.

En definitiva, las villitis linfocitarias |
de PHILIPPE (148) corresponden básicamente a las vellositis pro-
liferativas de ALTSHULER (5), mientras que la villitis monociti-
taria macrofágica incluiría las vellositis necrotizantes, repara-
tivas y la fibrosis estromal. En conjunto, no se tratan más que |
de diferentes estadios en la evolución de un mismo proceso, se-
gún nuestra opinión.

Las diferencias en la incidencia reportada
de las vellositis puede explicarse considerando que estos proce-
sos sólo se descubren tras un cuidadoso examen histo-patológico,
ya que en muchas ocasiones se trata de lesiones aisladas y muy |
dispersas, que pueden pasar desapercibidas. RUSSELL (168) ha es-
tablecido una estrecha relación entre la severidad de la vellosi-
tis y el retardo del crecimiento intrauterino, aunque la natura-
leza de esta relación permanece obscura. Este síndrome no puede |
atribuirse al daño placentario producido por el proceso inflama-
torio, ya que la mayor parte de las veces se trata de procesos |
focales que no explican "per se" la gran disminución de la capa-
cidad placentaria necesaria para producir la aparición de fetos |
de bajo peso.

Actualmente, se piensa que las distrofias |

fetales serían la consecuencia de la infección fetal y que las vellositis serían solamente un indicador de dicha lesión. El crecimiento retardado podría explicarse por el efecto inhibitorio que ejerce la infección sobre la síntesis de ADN. Por otra parte, ALTHABE (3) ha demostrado que los recién nacidos con bajo peso asociados a vellositis presentan generalmente, un elevado índice ponderal, es decir, muestran patrones de retardo de crecimiento armónicos, lo que sugiere que la causa comenzó a actuar desde estadios precoces de la gestación. Si se considera que las vellositis pueden recidivar en sucesivos embarazos, todo ello en conjunto, parece inducir que la infección placentaria podría ser secundaria a una endometritis crónica.

Recientemente, REDLINE (158) ha postulado que las vellositis son un índice, no de infección como se pensaba, sino de una reacción inmunitaria dentro del tejido placentario, la cual podría inhibir la transformación normal de las arterias espirales en vasos útero-placentarios.

Todos estos datos aportados anteriormente muestran la importancia y la controversia que actualmente existe en relación con las infecciones hematógenas y su relación con las vellositis y corioamnionitis.



1.2.3 FACTORES ETIOPATOGENICOS

Los principales factores que favorecen la instauración de una infección amniótica son la rotura prematura de las membranas, el coito, el cerclaje cervical, el descenso de la actividad antimicrobiana del líquido amniótico, el parto prolongado, la utilización de técnicas invasoras de exploración endouterina y las modificaciones del pH vaginal.

1.2.3.1 Rotura prematura de membranas (RPM)

La rotura prematura de las membranas ovulares se define como aquella que se produce dos o más horas antes del inicio del trabajo del parto (134).

La RPM es el principal factor favorecedor del desarrollo de una corioamnionitis. Su incidencia varía, según FABRE (55), entre el 3,2 % y el 14 % de todos los embarazos, y el riesgo de infección amniótica en estas pacientes oscila entre el 5 % y el 11 % (TABLA 1.3).

Según EVALDSON (52) y MEYER (116) el tabaquismo puede ser una causa favorecedora de la rotura de las membranas. NAEYE (130) en un informe sobre 10.640 partos, ha demostrado que la rotura prematura de las membranas ovulares es más frecuente en aquellas mujeres fumadoras cuya gestación llega a

TABLA 1.3

INCIDENCIA TOTAL DE INFECCION AMNIOTICA TRAS LA ROTURA PREMATURA DE LAS MEMBRANAS AMNIOTICAS

AUTOR	PERIODO	NUMERO DE NACIMIENTOS	RPBA	<u>INFECCION AMNIOTICA</u>	
				RPBA	TOTAL
RUSSELL	1958-1960	31865	8,3 %	5,0 %	0,4
SACKS	1964-1966	6269	6,6 %	10,6 %	0,7
CLARK	1961-1963	32002	3,2 %	11,0 %	0,3
GUNN	1956-1966	17562	10,7 %	9,0 %	1,0
GORDON	1969-1971	5610	14,2 %	9,7 %	1,4

RPBA: Rotura prematura de la bolsa amniótica

Tomado de FABRE (55)

término. En los partos pretérmino no ha constatado dicha relación. Por otra parte, no parece existir una relación clara entre el número de cigarrillos/ día y la posibilidad de rotura de membranas.

El desarrollo de una corioamnionitis está en relación directa con diversos factores: la duración del periodo de latencia entre la rotura de las membranas y el parto, la edad gestacional, la colonización bacteriana del tracto genital materno y la resistencia del huésped a la infección.

Cuando el periodo de latencia es menor de 24 horas, el porcentaje de infecciones oscila entre el 2 % y el 19,7 % (7 , 60). Si dicho intervalo es superior a 24 horas, el porcentaje asciende desde el 22 % hasta el 54,5 % (7 , 60) (TABLA 5). Sin embargo, es preciso señalar que todos los autores (183 , 51 , 199 , 21 , 149 , 153 , 19 , 169) utilizan el término de rotura prolongada de membranas para designar aquellos casos en los cuales el "lapsus" es superior a 24 horas, lo cual puede ser una actitud excesivamente condescendiente, ya que, si se tienen en cuenta los datos de BLANC Y COLS. (23), a partir de las 6 horas de bolsa rota, la incidencia de infección ascendente se incrementa bruscamente.

En el embarazo pretérmino la incidencia de

TABLA 1.4

INCIDENCIA DE INFECCION AMNIOTICA EN RELACION CON LA DURACION |
DEL PERIODO DE LATENCIA TRAS LA ROTURA PREMATURA DE LAS MEMBRANAS AMNIOTICAS

AUTOR	DURACION DEL PERIODO DE LATENCIA	
	< 24 HORAS	> 24 HORAS
GUNN	3,4 %	26,4 %
BRYANS	6,4 %	30,0 %
CURET	5,9 %	28,0 %
ANDREYKO	2,0 %	22,0 %
FOX*	19,7 %	54,5 %

* Corioamnionitis histológicas

Modificado de FABRE (55)

corioamnionitis es mayor que en las gestaciones a término. Sin embargo, los resultados comunicados por los diferentes autores son contradictorios cuando relacionan la incidencia de infecciones con el periodo de latencia. Así pues, MILLA y cols. (177) comunican un 25,8 % de amnionitis en partos pretérmino con rotura prolongada de membranas, frente al 6,5 % de infecciones producidas en los partos pretérmino cuyo lapsus de bolsa rota fue menor de 24 horas. No obstante, DAIKOKKU y cols. (39) y GARITE y cols. (65) demuestran como en la gestación pretérmino, la incidencia de mortalidad perinatal por infecciones intrauterinas y de fiebre materna no se incrementa con la duración de la rotura de las membranas. Tampoco encuentran incremento de cultivos positivos o corioamnionitis histológicas, en contraposición con lo que ocurre en las gestaciones a término.

Actualmente, se sabe que existen factores que modifican la flora vaginal, lo que facilitaría el desarrollo de las infecciones intrauterinas. Dichos factores son el empleo indiscriminado de los antibióticos y el número de los tactos vaginales. También el uso de esteroides para la maduración pulmonar fetal influye en la resistencia del huésped, si bien los resultados comunicados por los distintos autores son diversos. Mientras que para GARITE (65) y TAEUSCH (186), las gestantes tratadas con corticoides presentaban una mayor incidencia de corioamnionitis, ésta no se modificó sustancialmente en las series de BLOCK

(25), MORRISON (124), PAPAGEORGIU (144), COLLABORATIVE GROUP |
(32) y BARRETT (12).

1.2.3.2 Coito

La relación entre el coito y la aparición de un trabajo prematuro de parto es confusa (155). Autores como | PUGH y FERNANDEZ (154), MASTERS y JOHNSON (113), GOODLIN y cols | (72), WAGNER y cols.(194) y NAEYE (129) opinan que existe una | relación importante, aunque en ninguno de estos estudios aparece una relación estadísticamente significativa. Por el contrario, SOL | BERG y cols. (182), PERKINS y cols.(146), REYBURN y WILLSON(160) y MILLS (120) no encuentran asociación existente entre parto pre | término y conducta sexual durante el embarazo.

En relación a la rotura prematura de bolsa NAEYE (130) concluye que el parto prematuro debido a esta enti - | dad es once veces más frecuente cuando se asocian conjuntamente | corioamnionitis y coito reciente, y que la rotura prematura de | las membranas se incrementa sólo tres veces cuando una de estas | dos circunstancias está presente.

NAEYE (131) también encuentra diferencias | estadísticamente significativas entre el coito y la aparición de

una corioamnionitis. ¹ Él sostiene que el coito incrementa la tasa de mortalidad fetal y neonatal, e insinúa que podría ser beneficioso el uso de preservativos para prevenir estos efectos adversos. Este trabajo ha sido ampliamente discutido por otros autores que no comparten dichos criterios (83 ,193 , 147).

El orgasmo puede producir contracciones uterinas pero, según GOODLIN y cols. (74), parece poco probable que puedan alcanzar la intensidad necesaria para producir la rotura de las membranas ovulares normales. Sin embargo, sí podría explicarse si se considera al orgasmo como co-factor junto con un corioamnionitis localizada, la cual sería potenciada por la penetración bacteriana asociada al coito (123 ,131). Todo ello, incrementaría la probabilidad de que las membranas, previamente debilitadas a nivel local, sean más sensibles al efecto de las contracciones uterinas. Por otra parte, el líquido seminal, con su alto contenido en prostaglandinas, también actuaría como coadyuvante en la estimulación de la dinámica uterina.(115,103,104).

El coito puede facilitar la aparición de infecciones a través de varios mecanismos. Por una parte, LUNGQUIS (110) ha demostrado la presencia de enzimas proteolíticas en el líquido seminal, que facilitan el paso de los espermatozoides a través del tapón mucoso del cuello uterino. Dicho tapón mucoso opone, durante el embarazo, mayor resistencia a la penetración de

espermatozoides pero las enzimas del líquido seminal pueden ayudar al paso de bacterias (123). Los micoplasmas y algunos otros microorganismos se adhieren a los espermatozoides y, de esta forma, pueden ser transportados a cierta distancia a través del moco cervical (70).

Clásicamente se admitía que el líquido seminal tenía gran capacidad antibacteriana. Sin embargo, APPELBAUM y cols.(8) han demostrado que solamente el 85 por ciento de los líquidos seminales destruyen al *Staphilococcus aureus* y sólo el 50 por ciento ejercen un efecto bactericida sobre el *Escherichia coli*, agente que con gran frecuencia produce infecciones del líquido amniótico.

Finalmente, el coito puede ser también la vía de entrada de nuevos microorganismos en la vagina, hecho éste, que puede explicar la mayor frecuencia de corioamnionitis en las mujeres que tienen relaciones sexuales con más de un compañero durante el embarazo (132).

1.2.3.3 Cirugía cervical. Cerclaje

La cirugía cervical del tipo de la conización o de la biopsia, predispone a la rotura prematura de las

membranas y, secundariamente, al desarrollo de una corioamnionitis. También el cerclaje cervical (68) puede inducir la aparición de una infección amniótica, con una incidencia que oscila entre el 0,8 % y el 7,7 % (96, 1), especialmente, cuando se realiza después de la vigésima semana, o bien, las membranas están previamente rotas.

Actualmente, se admite de forma unánime (163, 121) que el cérvix no debe de ser suturado cuando exista una rotura previa del saco amniótico.

1.2.3.4 Disminución de la actividad antibacteriana del líquido amniótico

El líquido amniótico posee una importante actividad antibacteriana (62, 53). El poder bactericida se ha atribuido a la lisozima, a una beta-lisina y a un complejo péptido-cinc, del que se cree que es el factor antibacteriano más eficaz (37, 57, 173).

La actividad antibacteriana del líquido amniótico se caracteriza por experimentar variaciones a lo largo de la gestación, adquiriendo una capacidad progresivamente as -

cedente, que puede verse disminuida con la presencia de meconio o por una elevada concentración de gérmenes en su interior (118, 100, 71).

La existencia de una importante variación individual en la capacidad antimicrobiana podría explicar, según LEDGER y cols. (106) y DRISCOLL y cols. (45), la escasa correlación existente entre la corioamnionitis histológica y el síndrome clínico.

1.2.3.5 Variaciones del pH vaginal

El pH ácido de la vagina inhibe eficazmente el crecimiento de la mayor parte de los microorganismos (156). Sin embargo, este efecto protector puede ser interferido por la secreción exudativa resultante de infecciones vaginales que, como consecuencia, dan lugar a importantes modificaciones del pH vaginal (166, 99).

1.2.3.7 Parto prolongado

La frecuencia de corioamnionitis aumenta con la duración del trabajo de parto, especialmente, cuando éste supera las 20 horas. A ello contribuiría de forma muy importante

la exposición prolongada a las bacterias cervico-vaginales, la ausencia del tapón mucoso y la repetición de los tactos vaginales (55).

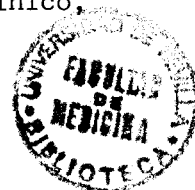
1.2.3.7 Exploración endouterina

El empleo de las técnicas invasivas de monitorización, especialmente, la utilización de catéteres de presión intrauterina, y su relación con las corioamnionitis, es controvertida. Mientras que LARSEN (98) encontró que la infección materna ascendía dramáticamente si la monitorización interna superaba las ocho horas, GASSNER (67) no confirmó estos hallazgos ni pudo establecer cuál es el período de tiempo a partir del cual el riesgo de infección amniótica aumenta. Es probable que sean las variaciones individuales de la capacidad antibacteriana del líquido amniótico y la asepsia del asistente al parto, los factores más importantes en la génesis de las corioamnionitis secundarias al empleo de técnicas de monitorización endouterina

1.3 DIAGNOSTICO

1.3.1 DIAGNOSTICO CLINICO

No existe, desde el punto de vista clínico,



una única definición de las corioamnionitis que sea universalmente aceptada. No obstante, los eventos asociados al diagnóstico | han sido bien descritos (85).

Clasicamente, los signos y síntomas acompañantes a la infección amniótica son la fiebre materna de 38°C ó más grados, la rotura prematura de las membranas, la taquicardia fetal y/o materna, el dolor a la palpación uterina, el trabajo | prematuro de parto y el olor fétido del líquido amniótico.

HARDT y cols. (80) han establecido recientemente un baremo que contempla los principales síntomas y signos asociados a hallazgos bacteriológicos y bioquímicos. Estos | autores (80) establecen la existencia del síndrome clínico de corioamnionitis cuando la suma asciende a seis o más puntos (TABLA 1.5). Por su parte, GIBBS y cols. (69) contribuyeron a establecer el perfil de la corioamnionitis clínica, describiendo | porcentualmente, y de mayor a menor frecuencia, los síntomas que encontraron en las pacientes de su casuística. En ella se destaca el hecho de que tan sólo la rotura prematura de las membranas, la leucocitosis periférica y la hipertermia materna se presentaban en más del 85 % de las pacientes (TABLA 1.6).

El criterio básico para el diagnóstico clínico de una corioamnionitis es la fiebre materna, en ausencia de

TABLA 1.5

SINTOMAS Y SIGNOS ASOCIADOS CON EL DIAGNOSTICO DE CORIOAMNIONITIS

SINTOMA O SIGNO	PUNTUACION*
Temperatura materna $\geq 38^{\circ}\text{C}$	2
Rotura prematura de membranas	2
Pulso materno ≥ 100 lpm	1
Línea de base de la frecuencia cardiaca fetal ≥ 160 lpm	1
Dolor uterino a la palpación	1
Trabajo prematuro de parto	1
Recuento leucocitario materno $\geq 18.000/\text{mm}^3$	1
Hemocultivo, cultivo endocervical o endome trial materno positivo	1
Confirmación histológica	2
Fetidez del recién nacido o del líquido amniótico	1

lpm= latidos por minuto

* Se requieren 6 ó más puntos para diagnosticar una co
rioamnionitis

Tomado de HARDT (80)

TABLA 1.6

FRECUENCIA DE APARICION DE LOS DIFERENTES CRITERIOS DIAGNOSTICOS
DE LAS CORIOAMNIONITIS AGUDAS

CRITERIO	%
Rotura de las membranas	98,2
Leucocitosis materna	86,1
Fiebre materna	85,3
Taquicardia fetal	36,8
Taquicardia materna	32,9
Líquido amniótico maloliente	21,6
Dolor uterino	12,9
Fetidez en el neonato	9,4

Tomado de GIBBS (69)



síntomas o signos de una infección extragenital. Así pues, en la mayoría de los casos se limita este diagnóstico a la existencia de unos síntomas inespecíficos que, para la mayoría de los autores (65 , 106 , 80), son siempre de aparición tardía.

Para el diagnóstico de la corioamnionitis clínica en el embarazo pretérmino es preciso considerar varios hechos. En primer lugar, el concepto descrito recientemente de corioamnionitis subclínica, considerada como una etapa inicial del proceso infectivo sin sintomatología alguna (55). GARITE Y cols. (65) han demostrado que ningún signo clásico es útil para el diagnóstico de estos estadios precoces y que la incidencia de la morbi-mortalidad perinatal y materna no se incrementa en estos embarazos, entre 28 y 34 semanas, con el período de rotura de la bolsa. En segundo lugar, otro hallazgo ha contribuido a dificultar más, tanto el diagnóstico como la conducta frente a las corioamnionitis en los embarazos pretérmino. Se trata de la aceleración de la maduración pulmonar fetal en los casos complicados con rotura prematura de membranas. LEDGER (106) ha demostrado que, a medida que la duración de la rotura es mayor, el riesgo de dificultad respiratoria disminuye. De hecho, RICHARDSON y cols. (162) han probado que el cociente lecitina/esfingomielina aumenta precozmente en estos pacientes. Dicho hallazgo es similar a la maduración pulmonar fetal con corticoides exógenos (108) y, según BAUER (14) y LEDGER (106) podría explicarse mediante

un aumento de la producción de corticoides exógenos estimulados |
por la rotura prolongada de las membranas.

Todos estos hechos acentúan la ya imperiosa
necesidad de encontrar criterios diagnósticos que permitan iden-
tificar la existencia de infección subclínica (76, 88).

1.3.2 DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO

El término de corioamnionitis, cuando es em-
pleado desde el punto de vista microbiológico, se refiere a la |
presencia de más de 100 colonias de gérmenes por mililitro, en |
el líquido amniótico cultivado, o bien, la presencia de bacterias
en un frotis teñido con el método de Gram (119, 9, 200).

1.3.2.1 Estudio microbiológico del líquido | amniótico

Para el adecuado estudio microbiológico del
líquido amniótico, se precisa que su obtención se realice bajo |
las mayores condiciones de asepsia y exento de contaminación bac

teriana procedente de otras regiones del aparato genital. Todo ello condiciona que, al contrario que para el estudio del índice lecitina/esfingomielina -que puede ser estudiado también por vía transcervical (136)-, su obtención deba ser realizada mediante amniocentesis transabdominal. Dicho método es factible de realizarse en una proporción variable de pacientes con rotura prematura de membranas, que oscila entre el 49 % y el 69 % (65 , 38) . Por lo tanto, las dificultades técnicas impiden en muchas ocasiones un correcto diagnóstico microbiológico.

Hasta 1980, basado en los resultados comunicados por BOBITT y LEDGER (26), se consideraba como positivo a aquel cultivo del líquido amniótico que contenía más de 1000 colonias por mililitro. Posteriormente, MILLER y cols. (119) han rebajado la cifra a 100 colonias por mililitro, especialmente, si las membranas están íntegras.

El valor predictivo de un cultivo con más de 100 col/ml, según GARITE y cols.(65), es del 73,3 %, la sensibilidad del 68,8 % y la especificidad del 94,3 %, lo que significa que un cultivo negativo asegurará mejor la ausencia de corioamionitis que uno positivo la existencia de ésta.

Los organismos aislados con mayor frecuencia en el líquido amniótico en pacientes catalogadas de corioam-

nionitis se exponen en la TABLA 1.7.

Otra posibilidad diagnóstica consite en la búsqueda de bacterias en muestras no centrifugadas de líquido amniótico, teñidas con el método de Gram. Para COTTON (38), GARITE (65) y MILLER y cols. (119) las tinciones positivas tienen un índice de predicción significativo en relación a la obtención de un cultivo positivo y el ulterior desarrollo de una corioamniotitis clínica.

1.3.2.2 Cultivo del conducto cervical

Recientemente, SVENSSON y cols. (185) han aislado diferentes tipos de gérmenes en el canal cervical del 92 por ciento de las pacientes cuyos partos finalizaron en cesárea (TABLA 1.8) No se ha encontrado correlación entre el hallazgo de un germen determinado y el desarrollo posterior de una corioamniotitis o sepsis neonatal.

1.3.2.3 Cultivo de la placenta

SVENSSON y cols . . (185) han aislado diferentes tipos de bacterias en la placenta del 96 % de las mujeres

TABLA 1.7

CULTIVOS POSITIVOS DE LIQUIDO AMNIOTICO OBTENIDO POR AMNIOCENTE-
SIS

CULTIVO DE LIQUIDO AMNIOTICO	Nº PACIENTES
Streptococcus Grupo B	5
Otros Streptococcus	3
Proteus mirabilis	1
Escherichia coli	1
Haemophilus influenzae	2
Pseudomonas	1
Neisseria gonorrhoeae	1
Bacilos Gram variables*	1
Bacteroides	4
fragilis	2
bivius	1
melaninogenicus	1
Fusobacterium	1
Contaminantes	2
Staphilococcus epidermidis	1
Streptococcus viridans	1
* No identificable posteriormente	

Tomado de GARITE Y FREEMAN (65)

TABLA 1.8

MICROORGANISMOS AISLADOS DEL CANAL CERVICAL (N = 83)

MICROORGANISMO	N	%
BACTERIAS AEROBIAS Y ANAEROBIAS		
FACULTATIVAS		
Staphilococcus epidermidis	44	53
Streptococcus faecalis	18	22
Streptococcus alfa	15	18
Gardnerella vaginalis	11	13
Streptococcus beta	9	11
Escherichia coli	9	11
Streptococcus microaerófilos	5	8
Proteus mirabilis	4	5
Klebsiella neumoniae	2	2
Streptococcus milleri	2	2
Bacillus sp	1	1
Staphilococcus aureus	1	1
Streptococcus intermedius	1	1
MYCOPLASMAS, UREAPLASMAS, CHLAMYDIAS		
Chlamydia trachomatis	2	2
Mycoplasma hominis	7	8
Ureaplasma urealyticum	12	14

TABLA 1.8 (CONT.)

MICROORGANISMO	N	%
BACTERIAS ANAEROBIAS ESTRICTAS		
Peptococcus magnus	22	27
Peptostreptococcus anaerobius	19	23
Bacteroides urealyticus	18	22
Bacteroides bivius	15	18
Bacteroides melaninogenicus	12	14
Bacteroides disiens	10	12
Peptococcus assacharolyticus	8	10
Bacteroides ruminicola ss brevis	8	10
Lactobacillus acidophilus	5	6
Fusobacterium nucleatum	3	4
Propionibacterium acnes	2	2
Bifidobacterium	2	2
Lactobacillus jensenii	1	1
Bifidobacterium adolescentis	1	1
Propionibacterium granulosum	1	1
Bacteroides fragilis	1	1
HONGOS		
Candida albicans	8	10
Torulopsis glabrata	2	2
Saccaromyces cerevisiae	2	2
Candida quillermondi	1	1

Tomado de SVENSSON Y COLS. (185)

cuyos partos finalizaron en cesárea (TABLA 1.9). No han podido relacionar estos hallazgos con el desarrollo de infección posterior aunque sí se aislan gérmenes con más frecuencia después de transcurridas más de 6 horas de la rotura de las membranas. Este hecho también se produce en aquellas gestantes que, conservando íntegras las membranas, muestran actividad contráctil.

1.3.3 DIAGNOSTICO BIOQUIMICO

Durante los últimos años, se han estudiado un gran número de parámetros hematológicos y bioquímicos, tanto de la sangre materna como del líquido amniótico, con el fin de establecer su valor predictivo en el desarrollo de una corioamnionitis, especialmente, en las gestantes con rotura prematura de las membranas ovulares. Los más importantes han sido el recuento y la fórmula leucocitaria, la velocidad de sedimentación globular y la proteína C-reactiva, en la sangre periférica materna; la láctico-deshidrogenasa (LDH) y el recuento leucocitario se han estudiado en el líquido amniótico.

1.3.3.1 Determinaciones en la sangre materna

TABLA 1.9

MICROORGANISMOS AISLADOS DE LA PLACENTA

MICROORGANISMO	N	%	CRECIMIENTO		
			+	++	+++
BACTERIAS AEROBIAS, ANAEROBIAS FACULTATIVAS Y MICROAEROFILAS					
Saphilococcus epidermidis	14	16	7	5	2
Streptococcus alfa	6	7	3	3	
Streptococcus microaerófilos	4	5	2	2	
Streptococcus beta	3	3		3	
Streptococcus intermedius	2	2		1	1
Streptococcus faecalis	1	1	1		
BACTERIAS ANAEROBIAS ESTRICTAS					
Propioniumbacterium acnes	13	15	8	5	
Peptococcus magnus	4	5	1	3	
Coccus Gram positivos	2	2	2		
Peptococcus assacharolyticus	1	1	1		
Bacteroides fragilis	1	1	1		
Bacteroides bivius	1	1		1	

TABLA (CONT.)

MICROORGANISMOS AISLADOS DE LA PLACENTA*

MICROORGANISMO	N	%	CRECIMIENTO		
			+	++	+++
HONGOS					
Candida albicans	1	1			
Candida parapsilosis	1	1			
*N= 86					

Tomado de SVENSSON Y COLS. (185)

* Recuento y fórmula leucocitaria

El embarazo "per se" induce una elevación | de las cifras de leucocitos en relación con las de la mujer no | embarazada (50). Suele oscilar entre 5.000 y 12.000 leucocitos | por milímetro cúbico pero durante el parto y principios del puer | perio puede elevarse considerablemente, hasta cifras de 25.000 ó | más; sin embargo, el incremento medio es de 14.000 a 16.000, se | gún TAYLOR y cols. (188), y de 10.000 a 15.000, según URANGA(192)

La causa de esta notable leucocitosis se | desconoce pero la misma respuesta se observa durante un ejerci | cio rudo y después de él. Es probable que represente la reapari | ción en la circulación, de leucocitos previamente derivados del | circuito activo (152). Modifican dichas tasas factores como el | estrés y la administración de corticoides.

En un estudio realizado por MILLA y cols. | (177) para establecer el carácter predictivo de varios paráme | tros hematológicos y bioquímicos en mujeres con una rotura pre | término de membranas, las modificaciones del recuento leucocita | rio no se relacionaron con el desarrollo de una corioamnionitis. Estos mismos autores (177) tampoco encontraron que la fórmula | leucocitaria (aparición de cayados y aumento de los neutrófilos) | fuese, por sí sola, de utilidad. Sin embargo, dedujeron que la | suma de estos parámetros y la cuantificación de la proteína C- |

reactiva , junto con los datos clínicos, sí puede ser predictiva.

* Velocidad de sedimentación globular

Dicho parámetro se encuentra aumentado en la gestación normal y su rango de normalidad es muy amplio (141). Ello condiciona su escasa utilidad para controlar la evolución de los procesos infecciosos concomitantes con el embarazo.

* Proteína C-reactiva

No existe un acuerdo unánime con la capacidad predictiva de este parámetro en el desarrollo de una corioamnionitis. Mientras que para ROMEM y cols. (165) y HAWRYLISHIM(82) las modificaciones de la proteína C-reactiva son más precoces que las modificaciones de la fórmula y recuento maternos y presentan una elevada sensibilidad y especificidad en la predicción de la corioamnionitis, para MILLA (177), cuando se compara con otros parámetros como el control de la temperatura, la monitorización fetal periódica, la fórmula y recuento de leucocitos, se aprecia que es el índice menos discriminativo para detectar precozmente una infección amnótica.

1.3.3.2 Determinaciones en el líquido amniótico

Los estudios realizados por LEISE y cols. |

(107) y POWERS y cols. (151) han demostrado como la actividad de la enzima láctico-deshidrogenasa (LDH) se incrementa en los leucocitos en presencia de infección. Este hallazgo podría explicar la elevada correlación encontrada por BOBITT y cols. (26), entre el aumento del número de leucocitos en el líquido amniótico y el incremento de la LDH. Para estos autores (26), la sucesión de los acontecimientos sería la siguiente: en primer lugar, los gérmenes que contaminan el líquido amniótico estéril iniciarían una respuesta defensiva por parte del huésped, manifestada por una emigración de leucocitos al interior de la cavidad amniótica; en segundo lugar, a medida que las bacterias van siendo fagocitadas, se produce la liberación de LDH al líquido amniótico, incrementándose notablemente sus niveles. En conclusión, el número de leucocitos y los valores de LDH reflejarían la contaminación bacteriana ya instaurada y la puesta en marcha de los mecanismos de defensa del huésped, más que predecir la infección clínica.

Para BOBITT y cols. (27), una concentración de LDH superior a 400 U.I./l. y un cociente de LDH en líquido amniótico/ suero materno superior a 1,5 sugiere la presencia de infección amniótica, aunque por sí solo tampoco es un criterio que permita un diagnóstico de certeza.

* Recuento leucocitario en el líquido amnió

tico

Su utilidad para el diagnóstico de la corioam_nionitis es controvertida. Mientras que para LARSEN y cols. (98) su presencia tendría carácter predictivo, GARITE y cols. y COTTON y cols. (65) no pudieron encontrar ninguna relación. Recientemente, HAMMED (79), en un estudio controlado, ha establecido que cifras iguales o superiores a 100 leucocitos/ml de líquido amniótico son indicativas de infección y se relacionan, además, de forma muy estrecha con el fallo de la tocolisis en las corioam_nionitis subclínicas de los embarazos pretérmino.

1.3.4 DIAGNOSTICO HISTO-PATOLOGICO

Las inflamaciones e infecciones feto-placentarias han sido materia de controversia durante los últimos años, no sólo en la definición de los criterios diagnósticos clínicos o microbiológicos, sino que la discusión se ha trasladado al terreno anatómo-patológico.

Desde el punto de vista macroscópico, en la mayoría de las corioam_nionitis, la placenta y las membranas aparecen normales. En algunos casos de infección bacteriana severa las membranas pueden estar friables, edematosas, opacas, pegajo-

sas y de olor fétido, perdiendo en estas ocasiones su normal aspecto translúcido y adquiriendo una fina apariencia granulada . En los raros casos de infección por *Cándida albicans*, las membranas adquieren un moteado blanco-amarillento (60).

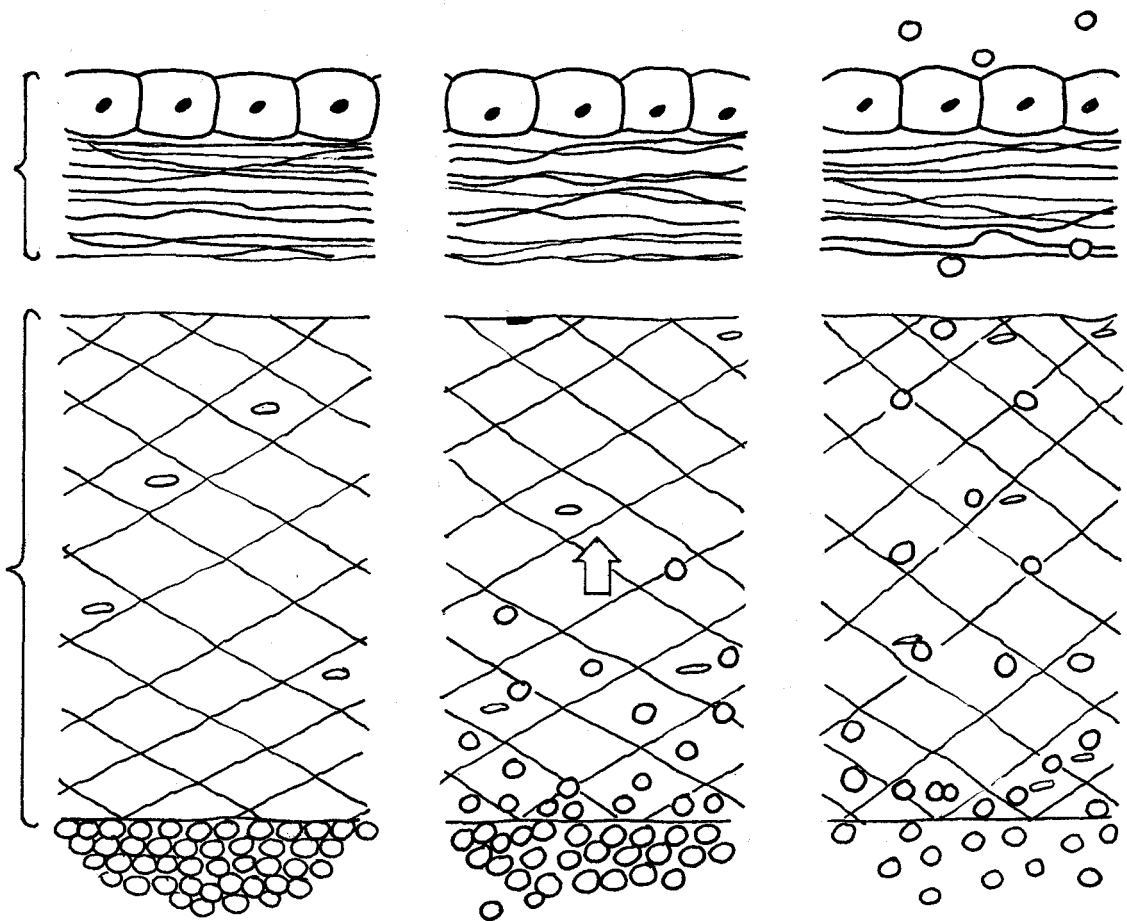
La corioamnionitis histológica ha sido definida por FOX (60), NAEYE y cols. (133) y PANKUCH y cols. (143) como el acúmulo de leucocitos polimorfonucleares en el techo | del espacio intervelloso, inmediatamente por debajo de la placa corial. Sin embargo, los criterios histológicos son muy varia - bles, hasta el punto de que existen casi tantos como autores se han ocupado del tema.

Según GUZICK y cols. (77), la corioamninitis aguda se define como la existencia de más de cuatro células inflamatorias agudas por campo de gran aumento, emigrando a la placa corial procedentes del espacio intervelloso.

BLANC (24) ha clasificado las corioamninitis, según sus diferentes características histológicas, en los siguientes estadios (FIGURA 1.1) en el estadio I, llamado intervellositis, los neutrófilos se adhieren a la parte inferior de| la placa corial; en el estadio II o corionitis, emigran a travé - vés del corion pero sin alcanzar el amnios y, finalmente, en el estadio III o corioamnionitis propiamente dicha, dichas células

FIGURA 1.1

CLASIFICACION DE LAS CORIOAMNIONITIS SEGUN LOS DIFERENTES ESTADIOS



Estadio I

(Intervellositis)

Estadio II

(Corionitis)

Estadio III

(Corioamnionitis)

alcanzarían el amnios o incluso pasarían a través de él a la ca
vidad amniótica.

El mismo autor (24) relaciona también la |
corioamnionitis con el número de neutrófilos presentes, de tal |
manera que, en el grado 1 hay menos de 10 neutrófilos por campo
microscópico de gran aumento; en el grado 2, entre 11 y 30 y en
el grado 3, más de 30 neutrófilos.

Actualmente, se admite que para poder realiz
ar el diagnóstico histo-patológico de "corioamnionitis" es prez
ciso estudiar de forma sistemática el cordón umbilical, el am-
nios-corion y la placenta en todo su espesor.

1.3.4.1 Clasificación de las corioamnionitis

ROLSCHAU y cols (164) han clasificado las |
corioamnionitis en:

* Funisitis: la vena y las arterias o la ge
latina de Wharton están claramente infiltradas por leucocitos .
Para estos autores (164) la funisitis es un factor coadyuvante |

en el desencadenamiento del parto, observando una estrecha relación entre su presencia y el desarrollo de un parto pretérmino.

* Corionitis: el diagnóstico de corionitis requiere una infiltración definida del corion por muchos leucocitos. Según este criterio, la presencia de leucocitos en el amnios o en la capa de fibrina subcorial, no se considera suficiente (que equivaldría a la corioamnionitis o grado 3 de BLANC) | (24). Se ha relacionado con bajo peso para la edad gestacional.

* Villitis o vellositis: al igual que PHILIPPE (148), ALTSHULER y cols. (5) y RUSSELL y cols. (168), ROLS CHAU (164) define la villitis o vellositis como una infiltración leucocitaria del estroma intravellositario. Sin embargo, este autor las denomina "vellosidades hipercelulares" cuando no existe un claro infiltrado leucocitario.

* Vellosidades hipercelulares: incluye en este grupo a aquellas placentas en las que existe gran celularidad en el estroma vellositario, pero el infiltrado inflamatorio es menos pronunciado que en los casos anteriores. Este grupo no parece tener mucha trascendencia patológica y puede, según ROLS CHAU (164), ser diferenciado con facilidad del grupo anterior.

PHILIPPE (148); por su parte, distingue dos



entidades: la corioamniosis y la corioamnionitis. Este autor de fine la corioamniosis como la infiltración leucocitaria del cor dón y de las membranas. Dicha lesión supone un 10 % de todas | las placentas, estando la proporción reducida en los embarazos | prolongados y en sufrimientos fetales (2-5 %) y aumentada en los casos de partos prematuros y roturas de membranas de más de 48 horas (16-20 %). También está aumentada la tasa de leucocitos | en las membranas, en los casos de muerte fetal intraútero y en las inyecciones intraamnióticas de solución hipertónica o prostaglandinas. Las membranas son infiltradas más frecuentemente | que el cordón, pudiendo durar dicho proceso desde unas horas a varios días. La topografía de estos leucocitos es importante, ya que las células de origen materno se localizan en estructuras | maternas, tales como la región subcorial de la placenta y debajo de la decidua refleja. Los leucocitos fetales se localizan | en estructuras fetales, como las paredes vasculares coriónicas | y umbilicales, la región subamniótica y en el corion de las mem branas.

La corioamnionitis es definida por PHILLI - PPE (148) como una lesión de las membranas coriales y amnióticas, en la cual el origen infeccioso está probado o es altamente probable. El origen infeccioso es cierto siempre que se evidencie el agente patógeno (frotis, cultivo bacteriano o viral). La infección es probable siempre que se asocien ciertos hallaz-

gos macroscópicos (membranas espesas y blanquecinas) y microscópicos (infiltrados leucocitarios densos asociados a una necrosis, zona lipídica o meconial). Las corioamnionitis, según el criterio de este autor, son frecuentes sobre todo en el curso de abortos provocados del segundo trimestre, ya que en este periodo, las infiltraciones leucocitarias de origen no infeccioso son raras.

Además de los dos términos anteriormente citados, PHILLIPPE (148) describe otra serie de entidades relacionadas con ellos:

* Placentitis: bajo este término se engloban aquellas inflamaciones placentarias con respuesta por parte materna y fetal. No puede producirse antes de la 18ª semana, fecha en la que el feto adquiere cierta madurez inmunitaria.

* Macrofagia intervellosa excesiva: en esta entidad se aprecian grandes cantidades de células mononucleadas macrofágicas, de gran tamaño y citoplasma repleto de vacuolas. Pueden asociarse a algunos linfocitos o polimorfonucleares. Este hallazgo es frecuente en el paludismo aunque en bastantes ocasiones la etiología permanece desconocida.

* Villitis: dicho proceso ha sido definido

anteriormente. Su etiología es incierta, aunque se relaciona | con frecuencia con el síndrome TORCH (Toxoplasmosis, Rubeola , Citomegalovirus y Herpes).

* Placentitis necrosante: es una placenti - tis en la cual existe en el corion vellositario una modifica - ción del estroma, ligada a trombosis vasculares e infiltrados | linfo-plasmocitarios. Las placentitis necrosantes se observan | en todas las infecciones por virus del grupo Herpes (Herpes sim - ple, Citomegalovirus y varicela) y en la rubeola.

* Placentitis de células gigantes multinu - cleadas: en algunos casos pueden apreciarse en la periferia de las vellosidades, unas células gigantes mul - tinucleadas, rodeadas de células mononucleadas dispuestas en es - tratos epiteliodes. Dicho proceso se observa al final del emba - razo y puede deberse a la varicela, enfermedad de Chagas y afec - tación tuberculosa.

* Exceso vellositario de fagocitos mononu - nucleados: Dichas células (células de Hoff - bauer) pueden aumentar de forma difusa en el corion vellosita - rio. Se pueden observar en todos los estadios del embarazo, aun - que son más frecuentes en el curso de abortos. Su significado | es mal conocido.

* Funiculitis necrótica: es un proceso bien descrito por SARRUT (169, 170), en el cual se produce una necrosis de la gelatina de Wharton con calcificaciones frecuentes. Se localiza en el polo fetal y/o placentario. Se acompaña de un edema del cordón y de rigidez en las paredes vasculares. Se asocia casi siempre (72 %) con partos pretérmino antes de la 30ª semana y su origen infeccioso parece probable.

Por otra parte, PHILIPPE (148) establece algunas diferencias entre placentitis bacterianas, virales y parasitarias.

1.3.4.2 Deciduitis

Un aspecto muy controvertido, dentro de los criterios morfológicos, es el papel que desempeñan las deciduitis dentro de las corioamnionitis. FOX (60) y DRISCOLL (45) piensan que la inflamación de la decidua y la placa basal no es, por sí misma, un índice de infección. Estos autores (60, 45) han propuesto que la necrosis, más o menos extensa, existente en la decidua de los embarazos normales, actuaría como un estímulo para que se produjese una liberación de quimiotoxinas a partir de la decidua vera. Ello daría lugar a la presencia de leucocitos sin que necesariamente existiese una infección bacte

riana. En base a estas conclusiones, no creen que la deciduitis sea un estadio previo de la corioamnionitis (40).

Sin embargo, CHELLAM y RUSHTON (36) sostienen precisamente lo contrario. Estos autores incluyen la deciduitis aislada como el estadio más precoz de la corioamnionitis, siendo la traducción de la respuesta materna más precoz a la infección de la cavidad amniótica. Dichos investigadores (36) han clasificado las corioamnionitis en diferentes tipos, en función del compartimento placentario afecto (FIGURA 1.2)

A pesar de estas opiniones contrapuestas, todos estos autores (60, 45, 36) coinciden en que la yuxtaposición a un tejido ricamente vascularizado (decidua vera o espacio subcorial materno) es una condición sin la cual no puede producirse una corioamnionitis. Esta afirmación se basa en las observaciones de que el septo amniótico de los embarazos gemelares casi nunca se ve afectado en las infecciones y que, en los fetos muertos intraútero retenidos durante más de un día, la aparición de deciduo-corionitis, con o sin amnionitis, nunca se asocia con vasculitis de la placa corial o del cordón.

1.3.4.2 Otros hallazgos histopatológicos

* Edema vellositario

Se asocia con gran frecuencia a las corio -
amnionitis. Este fenómeno se relaciona de forma muy estrecha |
con una tasa elevada de morbimortalidad perinatal. El edema se
caracteriza por la presencia de espacios abiertos en el inters-
ticio de las vellosidades y en el citoplasma de las células in-
travellositarias. Con frecuencia se interpone entre los capila-
res y el trofoblasto perivellositario, lo que dificulta el in-
tercambio gaseoso entre la madre y el feto. Cuando el edema es
severo, las vellosidades aparecen exangües, debido al efecto me-
cánico que aquél ejerce sobre los vasos fetales.

NAEYE y cols. (133) han establecido cinco |
grados de severidad del edema, en función del porcentaje del |
área afecta en cada vellosidad (TABLA 1.10). También proponen una
puntuación que se calcula multiplicando el porcentaje de vello-
sidades edematosas por el grado de severidad del edema, de tal |
forma que las cifras obtenidas pueden oscilar entre 0 (ausencia
de edema) y 500 (todas las vellosidades completamente edemato -
sas). Ello les permite establecer el pronóstico en función del
grado de afectación placentaria por el edema.

* Nudos sincitiales

Son agregados nucleares en el sincitiotrofo blasto que protuyen hacia el espacio intervelloso (60). Hay que diferenciarlos de los brotes sincitiales y de los injertos sincitiales. Los primeros están presentes en los primeros estadios de la gestación y representan las etapas iniciales del desarrollo de las vellosidades laterales. Los injertos sincitiales son invaginaciones del trofoblasto dentro del estroma vellositario que pueden llegar a separarse totalmente de su origen trofoblástico y aparecer como cuerpos multinucleados libres en el estroma de la vellosidad.

La naturaleza de los nudos sincitiales permanece desconocida pero es posible que sea un fenómeno de "secuestro" de los núcleos más viejos (90). Otros autores, como ALVAREZ (6) lo consideran, sencillamente, un acúmulo nuclear secundario a la aparición de las áreas membranosas anucleares. A menudo, los nudos se fusionan con vellosidades adyacentes, pudiendo desempeñar un papel protector del sistema vascular durante el trabajo de parto (86).

La incidencia de los nudos sincitiales es variable, oscilando entre el 11 % y el 30 % de las vellosidades. La formación de nudos superior a esas cifras se considera patológica (58) y se observa en las placentas de gestantes diabéti

cas (171), preeclámpticas (126), embarazos prolongados (60) y abortos recientes (60). No hemos encontrado referencias bibliográficas relativas a la variación de dicho parámetro en las infecciones placentarias.

* Membranas vasculo-sincitiales

Son zonas anucleares de sincitiotrofoblasto que se asocian a dilataciones capilares subyacentes y que aparecen, en microscopía óptica, como una fusión del trofoblasto a la pared del vaso. Con la microscopía electrónica se ha demostrado que dicha fusión no es un fenómeno real.

FOX Y AGROFOJO-BLANCO (59) demostraron que en dichas zonas hay un marcado descenso del número de microvilli en relación con otras zonas del sincitiotrofoblasto, deduciendo de este hallazgo que las membranas vásculo-sincitiales son las principales zonas de intercambio y transferencia, mientras que las zonas no membranosas serían las regiones encargadas de la mayor parte de los procesos de síntesis.

Estas zonas aparecen generalmente a partir de la semana 32ª, alcanzando el 20 % de las vellosidades en la placenta madura. Según MATHEWS (114) son más frecuentes en la zona parabasal que en la zona subcorial. Su incidencia disminu-

ye en aquellos casos en los que hay hipoxia fetal (60), en las preeclampsias (15), incompatibilidad del factor Rh (87) y en los casos de diabetes (60). Tampoco hemos encontrado referencias bibliográficas de la incidencia de las membranas vasculo-sincitiales en las infecciones placentarias.

* Necrosis fibrinoide de las vellosidades

Es un hallazgo visible a proximadamente en un 3 % de las vellosidades de la placenta madura (60). Consiste en el depósito de un material acidófilo y fuertemente PAS-positivo, entre el sincitiotrofoblasto y la membrana basal. En estadios posteriores este material puede ocupar toda la vellosidad.

Su incidencia se encuentra moderadamente aumentada en las pacientes con preeclampsia (178), diabetes mellitus e incompatibilidad Rh (89).

La patogenia del depósito de esta sustancia no ha sido explicada. Algunos autores sugieren que deriva de la sangre materna (122); otros afirman que el proceso depende primariamente del citotrofoblasto (197) y que sería consecuencia de un proceso inmunológico (31).

1.4 ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA

La revisión de los datos aportados por la bi bliografía, resumidos en los apartados anteriores, muestra una | gran diversidad de términos empleados para definir un mismo con- | cepto, así como una gran disparidad de criterios empleados actual- | mente para catalogar la corioamnionitis histológica. Podría in- | cluso decirse que su diagnóstico se basa muchas veces en crite- | rios unipersonales. Sin embargo, el problema de mayor trascenden- | cia es, a nuestro juicio, la ausencia de correlación entre los da- | tos clínicos -que definen la "corioamnionitis clínica"- y los ha- | llazgos anatómo-patológicos -que definen la "corioamnionitis his- | tológica", hasta tal punto de que podría pensarse que se trata | de dos entidades que no tienen nada en común.

La gran dispersión de criterios existentes y la ausencia de relaciones interdisciplinarias en el enfoque del | diagnóstico de las corioamnionitis, sería debida, en nuestra opi- | nión, a la ausencia de datos que permitan establecer la frontera | entre lo normal y lo patológico, especialmente, en lo que se re- | fiere a la presencia de leucocitos en la placenta, en las membra- | nas ovulares y en el cordón umbilical.

HIPOTESIS DE TRABAJO

Considerando el estado actual del problema, caracterizado fundamentalmente por las dificultades que plantea el diagnóstico de la corioamnionitis y la ausencia de uniformidad en sus criterios histo-patológicos, hemos elaborado las siguientes hipótesis de trabajo:

Primera: que la técnica de la Diaminobencidina-Cloruro de Cobalto (DAB-Cl₂Co) presenta grandes ventajas para el estudio leucocitario en los anejos ovulares (placenta, membranas y cordón umbilical) respecto de la técnica de la Hematoxilina-Eosina.

Segunda: que los criterios histo-patológicos que actualmente se emplean para tipificar las corioamnionitis histológicas no se ajustan a la realidad clínica, por lo que es preciso establecer con claridad los patrones que permitan una mayor aproximación a la realidad asistencial.

Al objeto de confirmar o rechazar nuestra hipótesis de trabajo inicial, hemos procedido a realizar las siguientes experiencias:

1. Experiencias de índole técnica y metodológica

1.1 Estudiar el grado de especificidad de la técnica DAB-Cl₂Co sobre el núcleo de los leu

cocitos.

1.2 Adaptar la técnica de la DAB-Cl₂Co al estudio de tejidos incluidos en parafina.

1.3 Comparar la utilidad de la técnica de la DAB-Cl₂Co en el recuento de los leucocitos en la placenta, en las membranas ovulares y en el cordón umbilical con la técnica de la Hematoxilina-Eosina.

2. Estudio histo-químico de la placenta, de las membranas ovulares y del cordón umbilical, a fin de establecer:

2.1 Las modificaciones morfológicas que experimentan, desde el punto de vista microscópico, los anejos fetales en relación con el tiempo de bolsa rota, la edad gestacional (partos a término y pretérminos), la presencia de meconio en el líquido amniótico y la existencia de corioamnionitis clínica.

2.2 El número y tipo de leucocitos presentes en los anejos fetales en relación con el tiempo de bolsa rota, la edad gestacional, la presencia de meconio y la existencia de corioamnionitis clínica.

2.3 La relación existente entre el recuento |
leucocitario en los anejos fetales, en dife- |
rentes situaciones clínicas, y el recuento |
leucocitario y la fórmula diferencial en la |
sangre materna en el momento del parto y del |
neonato.

2.4 La relación existente entre la corioam- |
nionitis histológica y los diferentes pará- |
metros clínicos, maternos y neonatales.

MATERIAL

Para la realización de este trabajo hemos procedido al estudio prospectivo de cincuenta placentas obtenidas de gestantes controladas, durante el periodo comprendido entre el mes de Octubre de 1985 y el mes de Abril de 1987, en el Departamento de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario de Sevilla.

3.1 GRUPOS DE ESTUDIO

El material objeto de nuestro estudio se distribuyó en ocho grupos (TABLA 3.1).

* GRUPO DE CONTROL (GRUPO 0): constituido por diez gestantes normales, que cumplieran los requisitos siguientes: ausencia de infecciones y de fiebre intraparto, sin tratamiento antibiótico y cuya ruptura de la bolsa amniótica se hubiese producido durante el periodo expulsivo o en el transcurso de una cesárea abdominal.

Las gestantes de este grupo se subdividieron, atendiendo a la forma de terminación del parto, en un subgrupo de cinco gestantes cuyo parto fue eutócico (GRUPO DE CONTROL DEL PARTO VAGINAL= CPV), y un segundo subgrupo de cinco

gestantes cuyo parto finalizó mediante una cesárea abdominal |
(CPC).

* GRUPO I: se han incluido dentro de este |
grupo a cinco gestantes normales a término, en las que transcu-
rrió un periodo de tiempo comprendido entre seis y doce horas |
desde la ruptura de las membranas hasta el momento del parto. En
todos los casos el líquido amniótico fue claro y no existió nin-
gún signo de infección.

* GRUPO II: formado por cinco gestantes a |
término en las que el periodo de bolsa rota osciló entre doce y
veinticuatro horas. En todas ellas el líquido amniótico fue cla-
ro y no existieron signos de infección.

* GRUPO III: constituido por diez gestantes
a término, con rotura de bolsa amniótica acaecida veinticuatro |
o más horas anteparto y con líquido amniótico claro.

* GRUPO IV: se incluyeron cinco gestantes |
con fiebre intraparto.

* GRUPO V: constituido por cinco gestantes
a término que presentaron líquido meconial en cualquier momento
del parto.

* GRUPO VI: se incluyeron cinco gestantes |
con embarazo pretérmino (menor de 37 semanas), en las que la ro-
tura de las membranas se produjo durante el periodo de dilata-|

ción avanzada. En ningún caso se superaron los treinta minutos |
entre la rotura de las membranas y el parto.

* GRUPO VII: formado por cinco gestantes |
con parto pretérmino y rotura de la bolsa amniótica de más de |
veinticuatro horas.

3.2 CARACTERISTICAS CLINICAS DE LAS GESTAN- TES ESTUDIADAS

3.2.1 EDAD

La edad de las pacientes objeto de nuestro |
estudio osciló entre los 16 y los 48 años. La edad media del |
grupo de control fue de $26,5 \pm 5,10$ años, siendo la del total |
de los grupos $27,0 \pm 6,09$ años. El 74 % de las gestantes te- |
nían edades comprendidas entre los 21 y los 30 años (TABLA 3.2).

3.2.2 ANTECEDENTES OBSTETRICOS

La distribución de las gestantes según su |
paridad se expresa en la TABLA 3.3. Es de destacar que la fre- |
cuencia más alta correspondió a las primíparas y a las secundí- |
paras (72 %). La media gestacional del grupo de control fue |

TABLA 3.1DISTRIBUCION POR GRUPOS DE LAS PACIENTES ESTUDIADAS

GRUPOS DE ESTUDIO	N
CONTROL (0)	10
I	5
II	5
III	10
IV	5
V	5
VI	5
VII	5
TOTAL	50

TABLA 3.2

DISTRIBUCION DE LAS PACIENTES POR EDADES

EDAD	N	%
16-20	4	8
21-25	22	44
26-30	15	30
31-35	5	10
36-40	2	4
41-45	1	2
46-50	1	2
TOTAL	50	

Media (Control) = $26,5 \pm 5,10$

Media (Total) = $27 \pm 6,09$

N.S.

TABLA 3.3DISTRIBUCION DE LAS PACIENTES SEGUN LA PARIDAD

PARIDAD	N	%
I	21	42
II	15	30
III	6	12
IV	5	10
V	3	6
TOTAL	50	

Media (Control) = $2,60 \pm 1,28$

Media (Total) = $2,08 \pm 1,28$

N.S.

de $2,60 \pm 1,28$ partos y la del total de los grupos fue de $2,08 \pm 1,28$ partos.

3.2.3 EDAD GESTACIONAL

La edad gestacional en el momento del parto se representa en la TABLA 3.4. El 22 % de las pacientes presentaron un tiempo de amenorrea inferior a 37 semanas. El 72 % tenía una edad gestacional comprendida entre la 37ª y la 42ª semana y, en tres casos (6 %) se trató de gestaciones cronológicamente prolongadas.

3.2.4 FIEBRE ANTEPARTO

Tres pacientes (6 %), pertenecientes al grupo IV, presentaron fiebre anteparto. Se consideró como tal la elevación de la temperatura corporal por encima de $37,5^{\circ} \text{C}$, en aquellas pacientes que no habían comenzado el trabajo de parto.

3.2.5 DURACION DEL PARTO

Hemos considerado como duración del parto al periodo comprendido desde la aparición de una dinámica uterina adecuada -al menos, tres contracciones cada diez minutos- con una dilatación cervical de 2 centímetros, hasta el final del pe-

TABLA 3.4DISTRIBUCION SEGUN LA EDAD GESTACIONAL

EDAD GESTACIONAL	N	%
Menor de 30	3	6
31-32	3	6
33-34	0	0
35-36	5	10
37-38	7	14
39-40	17	34
41-42	12	24
Mayor de 42	3	6

riodo expulsivo (TABLA 3.5).

Hay que subrayar que en el 40 % de los casos, la duración del parto fue inferior a cinco horas. Este hecho se explica porque la mayor parte de las mujeres a las que se les practicó una cesárea abdominal, tuvo un corto periodo de dilatación. Por el contrario, el 14 % de las gestantes sobrepasaron las veinte horas de duración del periodo del parto; de ellas, el 40 % presentaron fiebre intraparto.

3.2.6 TIPO DE PARTO

El tipo de terminación del parto de las mujeres estudiadas se representa en la TABLA 3.6. El número total de cesáreas fue de 15 (30 %), lo que supone un porcentaje inusualmente elevado. Ello vendría explicado porque cinco de esas pacientes fueron escogidas dentro del grupo de control, para formar parte del subgrupo de cesáreas. También lo explica el que se manejasen pacientes con roturas de bolsa de más de 24 horas, con fiebre de 37,5 °C ó más y con líquido meconial.

Hubo siete partos en presentación pelviana (14 %). La indicación más frecuente de cesárea abdominal (TABLA 3.7) fue la de "sufrimiento fetal" (46,6 %), seguida de "mal barremo en presentación pelviana" (33,3 %). En un 13,3 % se indicó

TABLA 3.5DISTRIBUCION POR GRUPOS SEGUN LA DURACION DEL PARTO (HORAS)

GRUPOS DE ESTUDIO	1-5	6-10	11-15	16-20	>20
CONTROL (10)	6	3	0	0	1
I (5)	0	4	1	0	0
II (5)	2	2	1	0	0
III (10)	2	4	1	1	2
IV (5)	1	2	0	0	2
V (5)	3	1	1	0	0
VI (5)	4	0	0	0	1
VII (5)	2	1	0	1	1
TOTAL	20	17	4	2	7

por la existencia de "desproporción clínica", esto es, gestantes con buena radioproporcionalidad pélvico-cefálica, en las que no hubo una adecuada progresión del parto.

Las indicaciones para la aplicación del fórceps fueron, en dos casos por sufrimiento fetal agudo en el periodo expulsivo, en un caso por expulsivo prolongado y, finalmente, en otra gestante se practicó por la existencia en sus antecedentes obstétricos de una cesárea en el parto anterior.

3.2.7 SUFRIMIENTO FETAL, PRESENCIA DE MECONIO Y DE FIEBRE INTRAPARTO

En la TABLA 3.8 se expresa, por grupos, la aparición de sufrimiento fetal detectado por monitorización biofísica (registro cardiotocográfico) y/o bioquímica (pH del cuero cabelludo menor de 7,25). También se describe la existencia de meconio o de fiebre intraparto (37,5°C ó superior).

Hay que reseñar que todas las gestantes del grupo V presentaron meconio intraparto, ya que ésta fue la premisa que estableció para su inclusión en este apartado. Hubo un caso de aparición de meconio en una presentación pelviana, en el que no se supuso sufrimiento fetal. También hubo siete pacientes con fiebre intraparto, cinco de las cuales pertenecían al grupo

TABLA 3.6

DISTRIBUCION SEGUN EL MODO DE FINALIZACION DEL PARTO

GRUPOS DE ESTUDIO	E	EP/V	F	C
CONTROL (10)	4	1	0	5
I (5)	2	1	1	1
II (5)	1	3	0	1
III (10)	4	3	1	2
IV (5)	1	1	1	2
V (5)	2	1	1	1
VI (5)	4*	0	0	1
VII (5)	3	0	0	2
TOTAL	21	10	4	15

* Un parto en pelviana finalizado mediante la manio-
bra de Bracht.

E: espontáneo

F: fórceps

EP/V: espátulas o ventosa

C: cesárea



TABLA 3.7INDICACIONES DE LAS CESAREAS

INDICACION	N	%
Desproporción clínica	2	13,33
Sufrimiento fetal	7	46,66
Pelviana (mal baremo)	5	33,33
Electiva	1	6,66
TOTAL	15	

TABLA 3.8

PRESENCIA DE SUFRIMIENTO FETAL; MECONIO Y FIEBRE INTRAPARTO
EN LAS GESTANTES DE LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO

GRUPO	SF	M	FIP
CONTROL (10)	0	0	0
I (5)	0	1*	0
II (5)	1	1	1
III (10)	1	2	1
IV (5)	2	3	5
V (5)	2	5	0
VI (5)	1	2	0
VII (5)	0	0	0
TOTAL	7	14	7

* Pelviana

SF: sufrimiento fetal

M: Meconio

FIP: fiebre intraparto

IV.

3.2.8 TIPO DE ALUMBRAMIENTO

En la TABLA 3.9 se exponen los diferentes grupos de estudio, agrupados según el tipo de alumbramiento. Se engloban dentro del grupo de "alumbramiento espontáneos" a aquellos que se produjeron sin más ayuda que la materna, o bien, aquellos en los que se realizó una ligera expresión uterina (N=34 , 68 %). Dentro de este grupo hemos distinguido dos subgrupos, dependiendo del mecanismo del alumbramiento. En veinte casos se produjo el alumbramiento según el mecanismo de Schultze (58 % de los alumbramientos espontáneos) y en catorce casos, según el mecanismo de Duncan (41,2 %).

Los dieciseis alumbramientos restantes fueron manuales y se realizaron en el transcurso de una cesárea abdominal, excepto en un caso realizado tras la aplicación de un fórceps en una paciente con cesárea anterior, asociándose a la revisión de la cicatriz histerotómica.

3.2.9 COMPLICACIONES PUERPERALES

Se produjeron dos casos de fiebre puerperal

en pacientes sometidas a cesáreas (Grupo de control y Grupo V). |
En ambos casos, la causa fue debida a la formación de un absceso
superficial en la herida laparotómica.

3.2.10 COMPLICACIONES NEONATALES

Del total de recién nacidos estudiados, 21 |
(42 %) presentaron algún tipo de complicación neonatal. Así pues,
diez fueron diagnosticados de ictericia neonatal (2 en el grupo
0, 3 en el grupo I, 3 en el grupo III, 1 en el grupo IV y otro |
en el grupo V). Hubo también un caso de conjuntivitis neonatal |
en un RN del grupo IV.

Diez RNs fueron asistidos en la Unidad de |
Neonatología. Uno de ellos, un pretérmino que pesó 510 g. al na-
cimiento, falleció a las diez horas por un cuadro de membrana |
hialina(grupo VI). Otros 3 neonatos del mismo grupo fueron ingre-
sados, dos por prematuridad y uno por sospecha de infección neona-
tal, corroborada por la aparición posterior de una neumonía y |
una sepsis. Del grupo VII fueron ingresados otros 3 RNs: dos por
prematuridad y uno por sospecha clínica de infección neonatal, con-
firmada por un hemocultivo positivo frente a Klebsiella neumo-
niae. Finalmente, otros 3 neonatos del grupo IV (fiebre materna)
ingresaron por sospecha clínica de infección neonatal, presentan

do uno de ellos, un cuadro irritativo neurológico. Los otros dos recién nacidos del mismo grupo, no fueron ingresados en Neonatología, a pesar de presentar síntomas clínicos de infección, por| evolucionar muy favorablemente al tratamiento en las primeras horas de vida.

TABLA 3.9

TIPOS DE ALUMBRAMIENTO

GRUPO	ESPONTANEO		MANUAL
	SCHULTZE	DUNCAN	
CONTROL (10)	1	4	5
I (5)	3	1	1
II (5)	1	3	1
III (10)	7	1	2
IV (5)	2	0	3
V (5)	2	2	1
VI (5)	2	2	1
VII (5)	2	1	2
TOTAL	20	14	16

TABLA 3.10

SEXO Y PESO MEDIO DE LOS RECIEN NACIDOS EN LOS DIFERENTES GRUPOS

GRUPO	VARONES	PESO#
CONTROL (10)	8	3.238 \pm 437
I (5)	3	3.278 \pm 325
II (5)	2	3.502 \pm 155
III (10)	7	3.255 \pm 308
IV (5)	3	3.140 \pm 455
V (5)	2	3.622 \pm 275
VI (5)	2*	1.468 \pm 604
VII (5)	3	2.218 \pm 628
TOTAL	30	

* Un parto gemelar

Media \pm desviación típica.

TABLA 3.11

TEMPERATURA MEDIA E INDICE DE APGAR DE LOS RECIEN NACIDOS EN
LOS DIFERENTES GRUPOS

GRUPO	TEMPERATURA	I. APGAR
CONTROL (10)	36,8 \pm 0,28	6,8- 9,3
I (5)	36,2 \pm 0,58	6,2- 9,6
II (5)	36,6 \pm 0,9	8,4-10
III (10)	36,8 \pm 0,5	7,6- 9,9
IV (5)	37 \pm 0,79	4,8- 8,8
V (5)	36,8 \pm 0,41	6,6- 8,8
VI (5)	35,6 \pm 0,6	3,6- 6
VII (5)	35,6 \pm 0,58	6,6- 9,2

METODO

4.1 METODO DE SELECCION DE LAS PACIENTES

Para la obtención de las placentas, objetivo final de nuestro estudio, se elaboró de forma prospectiva un protocolo de selección de las gestantes susceptibles de ser incluidas en el mismo y que debían de cumplir los requisitos siguientes:

* Ciclos menstruales normales y regulares desde, al menos, dos años antes de la fecha de la última regla (FUR).

* Precisión en el establecimiento de la FUR

* Gestación de evolución normal hasta el momento de su inclusión en algunos de los grupos de estudio, así como existencia de correlación entre la edad gestacional y el diámetro biparietal, obtenido mediante ecografía.

4.1.1 CRITERIOS DE CLASIFICACION DE LAS GESTANTES EN GRUPOS DE ESTUDIO

Los criterios generales elaborados para la clasificación de las gestantes en los diferentes grupos fueron

los siguientes:

- * Edad gestacional
- * Integridad o ruptura de las membranas ovulares.
- * Periodo de tiempo transcurrido entre la ruptura de las membranas ovulares y el momento del parto.
- * Existencia o no de hipertermia materna anteparto e intraparto.
- * Existencia de meconio intraparto.

En función de estas variables el material fue clasificado en los grupos relacionados en el apartado 3.1.

4.1.2 METODO DE RECOGIDA DE DATOS CLINICOS

Para la recogida de los datos clínicos, tanto maternos como del neonato, se elaboró un protocolo de trabajo (FIGURA 4.1). Dicho protocolo consta de cuatro apartados fundamentales, en los que se recogen datos generales y obstétricos de la paciente, datos del parto actual, características del neonato y los parámetros hematológicos, tanto maternos como del recién nacido.

En todos los casos, la recogida de datos fue

realizada por la misma persona.

4.1.3 METODOLOGIA DE ESTUDIO CLINICO DE LAS GESTANTES SELECCIONADAS

Una vez recogidos los datos en la anamnesis y en el protocolo de trabajo, se procedió a realizar una exploración sistematizada a todas las gestantes, que incluyó :

* El control del pulso, la temperatura y la tensión arterial en decúbito lateral izquierdo. La temperatura materna fue medida en la axila durante cuatro minutos.

* Un examen obstétrico, determinando mediante maniobras externas, la altura uterina, la situación y la presentación fetal, seguida de la auscultación de los latidos cardíacos fetales mediante un estetoscopio o con ultrasonidos.

* Un registro cardiotocográfico de, al menos, media hora.

* Un estudio mediante amnioscopio de todas las pacientes, para demostrar la posible existencia de la rotura de las membranas, así como la coloración del líquido amniótico.

* Un examen ecográfico en aquellas pacientes en las que se quiso determinar la cantidad de líquido amniótico, la madurez placentaria, los diámetros parietal, abdominal

y femoral, la existencia o no de puntos femorales o tibiales de osificación, así como otros datos que permitiesen establecer con mayor exactitud la correlación de la gestación con la amenorrea y la pérdida de líquido amniótico.

* Finalmente, en la sala de partos, se volvió a determinar, en las mismas condiciones que al ingresar, la temperatura materna y se extrajeron 5 cm³ de sangre de la madre, en el momento de cateterizar una vena periférica para el control del parto (infusión de oxitocina, analgesia,...). La sangre fue conservada en un tubo con citrato sódico, para impedir su coagulación y realizar, posteriormente, el estudio de la fórmula y re cu en to leucocitario.

4.1.4 METODOLOGIA DE ESTUDIO CLINICO DEL NEONATO

El recién nacido fue atendido, en todos los casos, por un neonatólogo, el cual estudió su estado general y neurológico, valorando el índice de Apgar al minuto y a los cinco minutos. Posteriormente, fue pesado y tallado.

El control de la temperatura fue realizado después de la exploración postparto del pediatra, a los cinco minutos del nacimiento, siendo medida en situación intrarrectal.

En los pretérminos y en los neonatos con complicaciones, la temperatura fue medida unos minutos después, en el Departamento de Pediatría (Unidad de Neonatología).

La extracción de sangre fetal se efectuó |
tras el alumbramiento, procedente de la vena umbilical. La canti-
dad de sangre recogida fue idéntica a la de la madre, al objeto |
de realizar el recuento y la fórmula leucocitaria.

4.1.5 TERAPEUTICA ANTE E INTRAPARTO

En algunos casos fue preciso establecer las medidas terapéuticas necesarias en función de los criterios esta-
blecidos en el Departamento de Obstetricia y Ginecología de la |
Facultad de Medicina de Sevilla.

* Antibioterapia: siguiendo el protocolo |
utilizado en nuestra clínica, fueron prescritos antibióticos |
-amoxicilina, 500 mg. cada 6 horas, por vía oral- a todas las pa-
cientes con rotura prematura de las membranas, independientemen-
te de la existencia o no de signos de infección (75). Dichopro-
ceder no es seguido por otros autores, como LEDGER (105), quién

es partidario de tratar solamente a aquellas pacientes que desarrollen signos de amnionitis, basándose en que todavía es desconocida la posible morbilidad para los neonatos a consecuencia del uso de la profilaxis antibiótica materna. Fue escogido dicho antibiótico por su inocuidad y facilidad de atravesar la barrera placentaria, pasando a la sangre fetal, en la que alcanza unos niveles algo inferiores a los de la sangre materna pero que están dentro de los límites terapéuticos (109).

Cabe resaltar que en los grupos I, II, III y VII el uso de antibióticos fue del 100 %.(TABLA 4.1)

* Corticoterapia: el empleo de corticoides, para acelerar la maduración pulmonar fetal, fue utilizado en aquellas gestantes que presentaron amenaza o parto pretérmino, y en las cuales, no existían contraindicaciones médicas para su administración. En todos los casos se empleó un método rápido de maduración, con 1000 mg cada doce horas de hidrocortisona, en dos dosis por vía intramuscular (124, 43)(TABLA 4.1).

* Beta-miméticos: la prescripción de ritodri ne para inhibir la dinámica uterina fue utilizada en los grupos

TABLA 4.1MEDIOS TERAPEUTICOS EMPLEADOS EN LOS DIFERENTES GRUPOS

GRUPO	AB	CC	B-M
CONTROL	0	0	0
I	5	0	0
II	5	0	0
III	10	0	0
IV	3	0	0
V	0	0	0
VI	0	1	1
VII	5	4	2
TOTAL	28	5	3

AB: antibióticos

CC: corticoides

B-M: beta-miméticos

de partos pretérmino (VI y VII). La posología empleada fue de 0,05 mg/min., inicialmente. Posteriormente, la dosis fue aumentando progresivamente hasta llegar a una inhibición eficaz del trabajo de parto (TABLA 4.1).

* Analgesia: siguiendo la pauta habitual de nuestra clínica (16 , 17 , 54 , 95 , 38 , 66), fueron analgesadas con tiobarbital sódico 41 pacientes, lo que supone un 82% del total estudiado (TABLA 4.2).

* Oxitocina: fue empleada para inducir el parto - en aquellos casos en que todavía éste no se había iniciado- o bien, para estimularlo -en aquellas pacientes que habían ya comenzado con dinámica uterina propia del periodo de dilatación. El método empleado fue la perfusión endovenosa de 3 U.I. de oxitocina disueltas en 500 cm³ de suero glucosado, controlando con un regulador de flujo, o bien, mediante una bomba de infusión. La velocidad del flujo fue progresivamente acelerada hasta conseguir una dinámica uterina eficaz (\approx 120 Unidades Montevideo)(66) (TABLA 4.2).

TABLA 4.2USO DE OXITOCINA (ESTIMULACION E INDUCCION DEL PARTO) Y ANA-
GESIA

GRUPO	ESTIMULACION	INDUCCION	ANALGESIA
CONTROL	4	0	8
I	4	0	5
II	4	0	4
III	8	5	10
IV	3	0	5
V	3	1	4
VI	2	0	2
VII	1	1	3
TOTAL	29	7	41

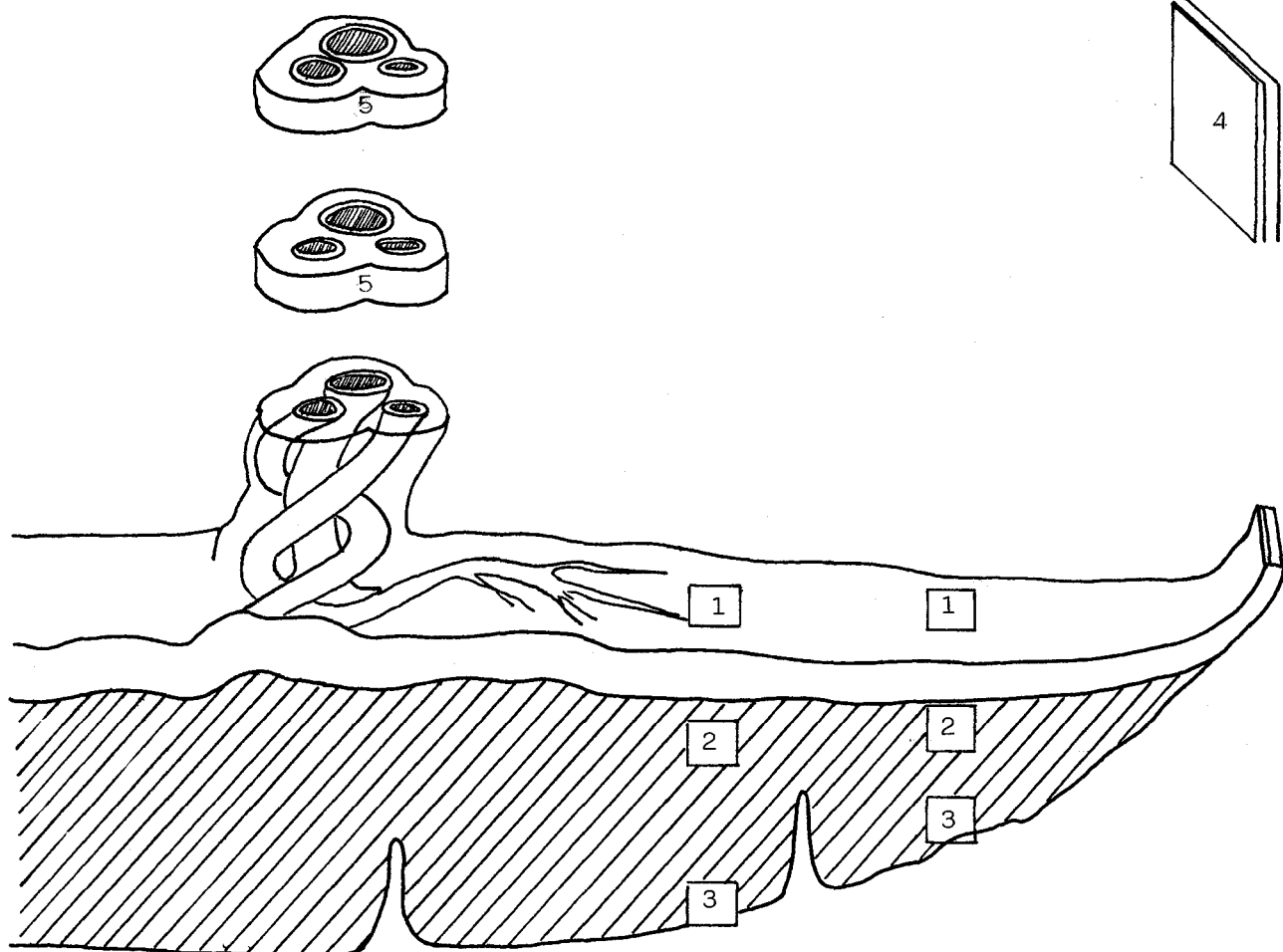
4.2 METODOLOGIA DE ESTUDIO DE LA PLACENTA , DE LAS MEMBRANAS OVULARES Y DEL CORDON UMBI LICAL

4.2.1 TECNICA DE RECOGIDA DE LAS MUESTRAS

Las placentas seleccionadas fueron talladas en una dependencia cercana a la sala de partos, en un período que nunca sobrepasó los 15 minutos a partir del alumbramiento . En todos los casos se biopsiaron fragmentos de la placa corial, de la placa basal, de las vellosidades de la región intermedia , del cordón y de las membranas ovulares, con un volumen aproximado de 0,5- 1 cm³ (FIGURA 4.2). En las tres primeras zonas (placa corial, basal y vellosidades coriales) se obtuvieron dos fragmentos, uno central y otro de la periferia placentaria, eludiendo siempre la zona en que existiesen infartos placentarios. Del cordón umbilical se biopsiaron dos cortes consecutivos de una zona situada a 5 cm. del lugar de inserción placentaria. Las membranas fueron talladas en dos zonas, la primera próxima al lugar de la rotura, y la segunda, adyacente a la placa corial.

Cada par de fragmentos fue lavado en suero fisiológico y, posteriormente, fijado en cinco frascos diferentes conteniendo una solución de formol al 10 %. Los cinco pares

FIGURA 4.2

ZONAS DE BIOPSIA PLACENTARIA

1: Placa corial 2: Vellosidades 3: Placa basal

4: Membranas ovulares 5: Cordón umbilical

de muestras fueron procesados para su inclusión en parafina.

4.2.2 OBTENCION DE LOS CORTES HISTOLOGICOS

A partir de los fragmentos de la placenta , de las membranas ovulares y del cordón umbilical incluidos en parafina, se realizaron diez cortes consecutivos -de 4 a 6 micrómetros de espesor- de cada fragmento, contabilizando un total de 2.500 cortes histológicos de placentas a término y pretérmino . Se utilizó un microtomo REICHERT-JUNG modelo 1130/BIOCUT. Cada corte fue depositado en un baño de flotación de agua a 37°C, a fin de facilitar su extensión y recogida en el portaobjetos, el cual había sido previamente identificado y tratado con una ligera película de ovoalbúmina glicerinada al 5%, con el fin de conseguir una adhesión definitiva de los cortes al mismo. Posteriormente, se procedió al secado de las preparaciones con una estufa a 37°C durante un periodo de tiempo que osciló entre 24 y 36 horas. Transcurrido este periodo, los cortes fueron almacenados al abrigo del polvo hasta el momento de relizar el estudio histológico que, en ningún caso, fue posterior a los dos meses.

4.3 METODO DE ESTUDIO DE LOS CORTES HISTOLOGICOS

De cada uno de los fragmentos procesados se seleccionaron seis cortes, uno de ellos para ser teñido con hematoxilina-eosina y los restantes para ser procesados mediante la técnica de la diaminobencidina tetrahidroclórica asociada al cloruro de cobalto (DAB-Cl₂Co).

4.3.1 HEMATOXILINA-EOSINA

La técnica utilizada para la tinción con hematoxilina eosina fue la siguiente:

En primer lugar se realizó una desparafinación en xilol, en dos baños de diez minutos. Posteriormente, se efectuó una hidratación en alcoholes de graduación creciente, en tres baños de cinco minutos cada uno. Tras este paso se realizó un lavado de los cortes en agua corriente. Posteriormente, se teñió con Hematoxilina de Harris, mediante tres pases rápidos, lavando en agua corriente y efectuando un rápido viraje en carbonato de litio, tras el cual se volvió a lavar con agua corriente abundante. Seguidamente, se introdujeron los cortes en un ba

ño de eosina alcohólica, mediante un pase rápido, deshidratando en alcoholes de graduación creciente, mediante tres pases rápidos en cada uno de los tres baños. Finalmente, se realizó un aclaramiento en xilol, mediante dos baños de cinco minutos. El montaje se realizó con DPX.

Los resultados obtenidos con esta técnica han sido utilizados como control de la calidad morfológica de los cortes histológicos de la técnica que a continuación se describe.

4.3.2 METODO DE LA DIAMINO-BENCIDINA TETRA-HIDROCLORICA-CLORURO DE COBALTO (DAB-Cl₂Co)

En el año 1984, DUEÑAS, WEGMANN y PANIGEL (46) describieron una nueva técnica de tinción que, aplicada al estudio de la placenta humana en fragmentos congelados con nitrógeno líquido, permitía, no sólo una buena diferenciación de los leucocitos, sino que además presentaba una gran afinidad por su núcleo.

La técnica de tinción descrita por estos autores (46) en la placenta congelada en nitrógeno líquido se ba-

sa en el empleo de los siguientes reactivos:

- 0,2 M TAMPON TRIS ClH a pH 8..... 20 cm³
- 3-3' DIAMINOBENCIDINA TETRAHIDROCLORICA (DAB)..... 4 cm³
- Cl₂Co 25 mM..... 1 cm³

y el siguiente protocolo:

*Incubación de los cortes histológicos con la solución de DAB-Cl₂Co durante 60 minutos en cámara húmeda a 37°C.

- * Lavado intenso con agua destilada
- * Deshidratación de los cortes con acetona.
- * Fijación en xilol.
- * Montaje de los cubreobjetos con DPX.

Con el fin de establecer de forma más precisa el grado de afinidad al núcleo de los leucocitos y de demostrar que la reacción obtenida por estos autores no se trataba de una reacción de las peroxidasas endógenas, realizamos una serie de experiencias preliminares, utilizando exactamente su protocolo en cinco placentas obtenidas mediante cesárea abdominal de gestaciones normales a término, con bolsa íntegra y cuya indicación había sido, en todos los casos, la de cesárea iterativa. Los cortes obtenidos fueron congelados en nitrógeno líquido y

estudiados inmediatamente después de haber sido cortados mediante criotomía.

4.3.2.1 Relación entre la técnica DAB-Cl₂Co y los ácidos nucleicos

Para el desarrollo de esta experiencia preliminar se practicaron 14 cortes histológicos de cada una de las placentas con los que se realizaron las siguientes reacciones histoquímicas:

* REACCION DE BRACHET: esta reacción permite poner de manifiesto el ADN nuclear, que adquiere una coloración verde, y el ARN, que adquiere una coloración rojiza. Los reactivos utilizados fueron:

- Solución de Brachet, preparada con 2 g. de verde metilo pironina, diluidos en 100 cm³ de agua destilada.
- Tampón acetato 0,2 M a pH 4,8.

y la técnica empleada se basó en el siguiente protocolo:

+ Mezcla en el momento de su empleo de 5 cm³ de solución de Brachet con 5 cm³ de tampón acetato 0,2 M pH 4,8.

+ Incubación de los cortes histológicos con la solución preparada al efecto durante 30 minutos a temperatura del labora

torio (27°C), en cámara húmeda.

- + Posterior lavado con agua destilada.
- + Deshidratación con acetona.
- + Fijación en xilol.
- + Montaje de los cubreobjetos con DPX.

Los resultados obtenidos con la reacción de Brachet fueron los esperados (núcleos teñidos de verde y nucleolos y citoplasma de rojo). Las preparaciones obtenidas fueron utilizadas como testigo del resto de las reacciones.

* Digestión del ADN existente en los cortes histológicos de la placenta con DESOXIRRIBO NUCLEASA (ADNasa) y posterior incubación con la reacción de Brachet.

Con esta experiencia control pretendimos poner de manifiesto la digestión del ADN de las células existentes en la placenta por la ADNasa, para lo cual empleamos la siguiente solución de incubación:

- ADN asa	2 mg.
- TAMPON ACETATO 0,2 M pH 5	5 cm ³
- AGUA DESTILADA	5 cm ³

Una vez preparada la solución de incubación -siempre en el momento de ser empleada- seguimos el siguiente | protocolo:

- + Incubación de los cortes con la solución de Desoxirri| bonucleasa durante dos horas en cámara húmeda a 37°C.
- + Lavado con agua destilada durante dos minutos
- + Incubación con la solución de Brachet durante treinta minutos a temperatura del laboratorio (27°C), en cámara húmeda
- + Lavado en agua destilada durante dos minutos.
- + Deshidratación con acetona y fijación en xilol.
- + Montaje de los cubreobjetos con DPX.

Los resultados obtenidos al estudiar las preparaciones | con microscopía fotónica fueron los esperados, es decir, se observaba la presencia de una reacción exclusivamente citoplásmi- ca (color rojo) en todas las células y preparaciones estudiadas.

* Digestión del ARN existente en los cor -
tes histológicos de la placenta humana con |
RIBONUCLEASA (ARNasa) y posterior incubación
de los mismos con la reacción de Brachet

Al igual que en la experiencia anterior, en

este caso pretendíamos poner de manifiesto la digestión del ARN de las células existentes en la placenta por la ARNasa. Para ello, utilizamos la siguiente solución de incubación:

- ARNasa2 mg
 - TAMPON ACETATO10 cm³

Tras preparar dicha solución, se procedió inmediatamente a la incubación de los cortes de placenta, realizando el protocolo siguiente:

+ Incubación de los cortes de placenta humana con la solución de Ribonucleasa durante dos horas, en cámara húmeda a 37°C.

+ Lavado con agua destilada durante dos minutos.

+ Incubación con la solución de Brachet durante treinta minutos, a temperatura del laboratorio (27°C), en cámara húmeda.

+ Lavado con agua destilada durante dos minutos.

+ Deshidratación con acetona y fijación en xilol.

+ Montaje de los cubreobjetos con DPX.

Tras estudiar las preparaciones al microscopio, observamos, como en este caso, los núcleos aparecían teñidos (color verde) y se apreciaba la ausencia, tanto de nucleolo, como de

tinción citoplásmica.

Estas tres experiencias previas nos permitieron valorar la calidad de las enzimas utilizadas y como referencia o control de las experiencias que se exponen a continuación.

* Incubación de los cortes histológicos de placenta humana con la técnica de la DIAMINO BENZIDINA TETRAHIDROCLORICA Y EL CLORURO DE COBALTO (DAB-Cl₂Co)

Siguiendo el protocolo de incubación de las preparaciones utilizado por DUEÑAS y cols. (46), con la técnica de la DAB-Cl₂Co, observamos como todas las células existentes en la placenta humana (trofoblásticas y no trofoblásticas) presentaban una tinción nuclear intensa de la cromatina así como una ligera tinción citoplásmica, mucho más evidente en los leucocitos. Nuestras observaciones coinciden exactamente con las descritas por dichos autores (FIGURAS 4.3 y 4.4).

* Incubación de las preparaciones de placenta humana con DESOXIRIBONUCLEASA y posteriormente con la técnica de la DAB-Cl₂Co

Siguiendo las técnicas descritas en los apartados anteriores, procedimos en primer lugar a realizar la digestión del ácido desoxirribonucleico con ADNasa y, tras un lavado exhaustivo con agua destilada, a incubar inmediatamente las preparaciones con la técnica de la diaminobencidina. Al valorar las preparaciones al microscopio óptico observamos como en las células trofoblásticas se apreciaba la ausencia de tinción nuclear, manteniéndose una ligera tinción citoplásmica. Sin embargo, algunas células, a pesar del pre-tratamiento con ADN-asa mantenían la tinción nuclear con gran intensidad. Estas células fueron identificadas posteriormente como leucocitos. Este hecho nos demostró como la tinción a base de DAB-Cl₂Co presentaba una gran afinidad por los núcleos de los leucocitos, incluso en presencia de desoxirribonucleasa (FIGURAS 4.5 y 4.6).

* Incubación de las preparaciones de placenta humana con RIBONUCLEASA (ARN-asa) y tratamiento posterior con DAB- Cl₂ Co

Finalmente, siguiendo el mismo protocolo de la experiencia anterior, sustituyendo la solución ADN-asa por la de ARN-asa, observamos como aparecían teñidos todos los núcleos de las células placentarias mientras que los citoplasmas permanecían sin teñir (FIGURA 4.7).

A fin de confirmar que las células que mantenían la coloración nuclear se trataban de leucocitos, realizamos una experiencia suplementaria, tratando el resto de las preparaciones con la tinción de MAY-GRÜNWARD-GIEMSA, según el siguiente protocolo:

- + Incubación de los cortes histológicos con 25 gotas de MAY-GRÜNWARD durante tres minutos.

- + Ajustar la misma cantidad de agua destilada durante un minuto.

- + Limpieza de las preparaciones sin secado.

- + Incubación con la solución de GIEMSA, previamente diluida en agua destilada al 50 %, durante quince minutos.

- + Lavado con agua destilada.

- + Secado de la preparación con papel de filtro.

- + Fijación del cubreobjetos con aceite de cedro.

Al estudiar las preparaciones al microscopio óptico, constatamos como las células problema, teñidas anteriormente con DAB-Cl₂Co en presencia de ADN-asa, se trataban de leucocitos, siendo la mayor parte de ellos polimorfonucleares.

4.3.2.2 Relación entre la técnica de la DAB Cl₂Co y las endoperoxidasas

Para descartar la posibilidad de que la reacción observada por DUEÑAS y cols. (46) se tratase de una consecuencia de la acción de las peroxidases endógenas, realizamos un segundo grupo de experiencias, utilizando para ello, cortes sucesivos de las placentas empleadas en las experiencias descritas en el apartado 4.3.2.1.

Las experiencias realizadas fueron las siguientes:

+ Pre-tratamiento de los cortes histológicos con calor seco y húmedo, respectivamente, a 70°C durante 3 minutos y posterior incubación con la solución DAB-Cl₂Co.

+ Pre-tratamiento de los cortes con ácido clorídrico (ClH) 0,03 N e hidróxido sódico (NaOH) 0,03 N, respectivamente, durante 5 minutos a temperatura del laboratorio y posterior incubación con la solución de diaminobencidina.

+ Asociación de cianuro potásico (CNK) 0,003 N a la solución de diaminobencidina y posterior incubación de las preparaciones.

+ Asociación de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 3 % , 0,3 % y 0,03 %, respectivamente, a la solución de DAB-Cl₂Co, con posterior incubación de las preparaciones.

Los resultados de estas experiencias no presentaron ninguna diferencia, en cuanto a la distribución e intensidad de la tinción respecto de los casos control, hecho éste que descartaba la posible existencia de una reacción de las endoperoxidasas.

4.3.2.3 Técnica de la DAB-CL₂Co aplicada al estudio de la placenta humana fijada en parafina

Esta técnica había sido utilizada exclusivamente en la placenta humana congelada en nitrógeno líquido (), por lo que, una vez que demostramos su afinidad por los ácidos nucleicos, especialmente de los leucocitos, y que no se trataba de una reacción debida a la activación de las endoperoxidasas, procedimos a su adaptación para el estudio de la placenta humana fijada en parafina.

Los cortes histológicos de placenta humana fueron desparafinados e hidratados según el siguiente protocolo:

- + Primer baño en xilol durante 10 minutos.
- + Segundo baño en xilol durante el mismo tiempo.
- + Tres baños sucesivos en alcoholes de graduación cre-

ciente de 5 minutos.

+ Lavado en agua corriente.

Los cortes de placenta hidratados se distri
buyeron en grupos para ser incluidos en las diferentes experien
cias:

+ Incubación de los cortes con la técnica de la DAB-Cl₂Co descrita anteriormente, a 37°C, en cámara húmeda, durante los siguientes tiempos de incubación: 30'-45'-60'-75'-90'-105'-120' 135'-150'165'-180'-4 h.-5 h. y 5 h.

+ Pre-tratamiento de los cortes histológicos con calor|
seco a 70°C durante 3 minutos y posterior incubación con la so-
lución de DAB-Cl₂Co, con los mismos tiempos de la experiencia |
anterior.

Tras observar las diferentes preparaciones|
al microscopio, llegamos a la conclusión de que la mayor cali -
dad morfológica del tejido la proporcionaba el pre-tratamiento
con calor seco a 70°C durante 3 minutos y la posterior incuba -
ción con la solución de DAB-Cl₂Co durante 75', en cámara húmeda
y estufa a 37°C.

+ Influencia del pH del tampón TRIS-ClH 0,2 M en la calidad e intensidad de la reacción: a fin de establecer la influencia de dicho factor en la calidad e intensidad de la reacción obtenida, procedimos a la preparación de la solución problema con tampón a diferentes pH: 5, 5'5, 6, 6'5, 7, 7'5, 8, 8'5 y 9. Pudimos observar que, cuando la solución de incubación tiene un pH inferior a 6'5 y superior a 8'5, la reacción era negativa y que el pH óptimo de la misma era 8.

Por último, tras realizar las sucesivas experiencias preliminares descritas, llegamos a la conclusión de que la técnica óptima de tinción con DAB-Cl₂Co para tejidos incluidos en parafina sería:

- + Desparafinación en xilol (2 baños de 10' cada uno).
- + Hidratación en alcoholes de graduación decreciente (3 baños de 5' cada uno).
- + Lavado en agua corriente.
- + Pre-tratamiento de los cortes histológicos mediante calor, en ambiente húmedo, a 37°C.
- + Incubación durante 75' en un solución compuesta de:
 - 8mg de 3,3' DAB-tetrahidroclórica.
 - 10 ml de 0,2 M tampón TRIS-ClH, a pH 8.
 - 1 ml de CL₂Co 25 mM.
- + Lavado en 3 ocasiones durante 3' en agua destilada.

+ Deshidratación mediante 3 pases rápidos en alcoholes de graduación creciente.

+ Aclaramiento en xilol mediante 2 baños de 5'.

+ Montaje en DPX.

4.2.3.4 Utilidad de la técnica de la DAB-Cl₂Co para el recuento de los leucocitos en la placenta humana: comparación con la técnica de la Hematoxilina-eosina

Las experiencias preliminares descritas realizadas con la técnica de la DAB-Cl₂Co y su adaptación metodológica al estudio de la placenta humana incluida o fijada en bloques de parafina, tenía como último objeto, estudiar su utilidad en el recuento de los leucocitos, a fin de establecer los patrones de normalidad, y aplicarla al estudio de la corioamnionitis. A nuestro juicio, este planteamiento metodológico hubiera estado incompleto sin comparar este nuevo método con la técnica habitual de tinción empleada por los patólogos (Hematoxilina-eosina). Por ello, procedimos a realizar una última experiencia preliminar, que consistió en tomar dos preparaciones consecutivas de cada uno de los fragmentos de placenta, membranas ovulares y cordón umbilical de un caso de cada uno de los ocho grupos de estudio y reali

zar en ellas el recuento de los leucocitos, previa tinción de una de las preparaciones con Hematoxilina-Eosina y la otra con la técnica de la DAB-Cl₂Co. El recuento realizado por dos observadores independientes, arrojó resultados sin diferencias significativas, tanto inter-observador como inter-tinción. La ventaja de la técnica de la DAB-Cl₂Co reside en la mejor y más rápida identificación de los leucocitos en estos tejidos.

4.4 METODO DE ESTUDIO DE LA FORMULA LEUCOCITARIA SANGUINEA

En la sangre recogida, tanto materna como fetal, fueron determinados el recuento leucocitario y su fórmula diferencial. El primero fue obtenido de forma automática mediante el analizador COULTER. La fórmula fue determinada mediante métodos manuales de contaje por campos.

4.5 METODO DE OBTENCION DE LOS RESULTADOS EN EL ESTUDIO HISTO-PATOLOGICO

El recuento leucocitario, tanto en la placenta como en las membranas ovulares y el cordón umbilical, fue



realizado con el objetivo de 40 aumentos, visualizando, en cada caso, 40 campos elegidos al azar de cada una de las preparaciones problema. Se cuantificó el número de leucocitos polimorfonucleares en la placa corial y basal, así como en las vellosidades, seleccionadas siempre en tres zonas de la placenta: subcorial, central y parabasal.

La clasificación de las corioamnionitis por grados y estadios fue realizada siguiendo los criterios de BLANC (24).

La evaluación de la edad gestacional mediante el estudio de las células del epitelio amniótico, fue realizada atendiendo a los criterios establecidos por PHILLIPPE(148), quién se basa en la aparición de vacuolas lipídicas, en la altura del epitelio amniótico y en el grado de exfoliación celular.

El resto de los parámetros, tales como los nudos sincitiales, membranas vasculo-sincitiales, necrosis fibrinoide, número de vasos vellositarios, número de capas de células citotrofoblásticas y número de capas de células deciduales, fue evaluado mediante el recuento de 40 campos en cada preparación problema, con el objetivo de 40 aumentos. El número de vellosidades atróficas, debido a su relativa escasez, fue contabilizado

mediante el objetivo de 10 aumentos.

En total, fueron evaluados, por dos observadores independientes, SESENTA Y CINCO MIL SEISCIENTOS CAMPOS microscópicos, sin contabilizar todas las reacciones de prueba y experiencias preliminares.

4.6 METODO DE ANALISIS DE DATOS

Para el análisis de los resultados obtenidos se utilizó un fichero, construido utilizando como base, el programa "DATA BASE III PLUS", en el que se introdujeron todas las variables clínicas, hematológicas y anatómo-patológicas, mediante un ordenador INVEPC-640 TURBO.

El estudio estadístico fue realizado con otro ordenador del mismo modelo, utilizando para ello el programa "SPSS". Con dicho programa se realizaron dos tipos de análisis de datos diferentes:

* Para comparar los grupos según una variable continua se utilizó el análisis de la varianza, que relaciona las medias de los distintos grupos, y un test de comparaciones múltiples, denominado "LSD".

* Para relacionar dos variables se empleó el test de la "CHI-CUADRADO" (previa corrección de YATES).

El nivel de significación escogido fue, en todos los casos, del 5 % ($p < 0,05$).

4.7 METODO FOTOGRAFICO

Tanto para la interpretación de los resultados como para el registro fotográfico de las preparaciones, fue utilizado un microscopio fotónico marca WILD M-11. La película empleada en todos los casos fue KODAK TRI-X, con una sensibilidad de 400 ASA.

RESULTADOS

5.1 HALLAZGOS HISTO-PATOLOGICOS

Los resultados histo-patológicos han sido distribuidos en dos grandes grupos: hallazgos morfológicos y resultados obtenidos en el recuento leucocitario de los diferentes compartimentos de los anejos fetales.

5.1.1 HALLAZGOS DEL ESTUDIO MORFOLOGICO DE LAS PLACENTAS

En cada uno de los fragmentos (placa basal, placa corial y vellosidades intermedias) de las placentas objeto del estudio hemos evaluado y cuantificado cinco parámetros morfológicos: los nudos sincitiales, las membranas vâsculo-sincitiales, la necrosis fibrinoide, el número de vasos por vellosidad y el edema vellositario.

5.1.1.1 Nudos sincitiales

En la TABLA 5.1 se exponen los porcentajes medios de vellosidades con nudos sincitiales, clasificados por grupos de estudio y según su localización en el espesor de la placenta (FIGURA 5.1). Puede observarse como los resultados obteni-

TABLA 5.1

PORCENTAJES MEDIOS DE VELLOSIDADES CON NUDOS SINCITIALES

GRUPO DE ESTUDIO	VELLOSIDADES SUBCORIALES	VELLOSIDADES INTERMEDIAS	VELLOSIDADES PARABASALES
CONTROL	40,74	29,02	30,08
I	30,64	36,06	32,2
II	37,08	32,98	32,04
III	41,56	36,99	26,62
IV	12,2*	17	20,54
V	27,46	37,76	23,38
VI	41,16	30,34	32,32
VII	14,78*	27,84	17,64

* $p < 0,05$

dos muestran cifras similares en todas las localizaciones y en todos los grupos, excepto en el de placentas obtenidas de mujeres con rotura prematura de membranas en partos pretérmino (grupo VII) y en el de corioamnionitis sintomáticas (grupo IV), en los que el número de nudos está muy disminuido.

Al realizar el estudio estadístico, se aprecian diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los grupos IV y VII y los demás. Por otra parte, tanto en el grupo de control como en los grupos II, III, V y VI, los nudos sincitiales son más abundantes en las vellosidades de la zona corial mientras que, en los grupos I, IV y VII, predominan en las vellosidades de la región parabasal.

5.1.1.2 Membranas vâsculo-sincitiales

En la TABLA 5.2 se representan los porcentajes medios de vellosidades coriales con membranas vâsculo-sincitiales, distribuidos según el grupo de estudio y su localización en la placenta (FIGURA 5.1). Puede observarse como, en general, estos porcentajes aumentan a medida que las vellosidades están más cerca de la placa basal.

Al comparar los resultados obtenidos en los

TABLA 5.2PORCENTAJES MEDIOS DE VELLOSIDADES CON MEMBRANAS VASCULO-SINCITIALES

GRUPO DE ESTUDIO	VELLOSIDADES SUBCORIALES	VELLOSIDADES INTERMEDIAS	VELLOSIDADES PARABASALES
CONTROL	25,4	28,2	37,68
I	36,12	28,94	30,98
II	26,04	44,72	46,58
III	36,54#	42,69	56,51
IV	15,76#	21,48	24,2
V	19,52	36,6	40,06
VI	35,1	32,54	31,74
VII	1,24*	27,4	26,56

* $p < 0,05$ # $p < 0,05$ entre ambos grupos

diferentes grupos, se aprecian diferencias significativas en el porcentaje de MVS de las vellosidades subcoriales del grupo VII (pretérminos con RPM) en relación a todos los demás, y entre los grupos III y IV, respectivamente.

5.1.1.3 Necrosis fibrinoide

El porcentaje de vellosidades coriales con necrosis fibrinoide, según su localización y grupo de estudio (FIGURA 5.2), se expone en la TABLA 5.3. Al contrario de lo observado en el apartado anterior, dicho porcentaje disminuye a medida que las vellosidades se aproximan a la placa basal. No obstante, no hemos encontrado diferencias significativas entre los diferentes grupos de estudio.

5.1.1.4 Número de vasos sanguíneos fetales en las vellosidades terminales

En la TABLA 5.4 puede observarse el número medio de vasos fetales (FIGURA 5.2), cuantificados en las vellosidades terminales de las diferentes localizaciones y según el grupo de estudio.

TABLA 5.3

PORCENTAJES MEDIOS DE VELLOSIDADES CON NECROSIS FIBRINOIDE

GRUPO DE ESTUDIO	VELLOSIDADES SUBCORIALES	VELLOSIDADES INTERMEDIAS	VELLOSIDADES PARABASALES
CONTROL	5,7	3,86	2,1
I	7,26	4,74	8,02
II	5,82	5,3	5,16
III	4,81	3,89	3,8
IV	4,96	4,74	4,42
V	3,16	4	2,82
VI	10,88	8,82	3,88
VII	5,6	9,32	3,74

Los resultados obtenidos muestran como se produce un discreto aumento en el número de vasos, a medida que la vellosidad se aproxima a la placa basal, si bien no existen diferencias significativas entre los diferentes grupos.

5.1.1.5 Edema vellositario

La frecuencia de aparición del edema vellositario ha sido variable en los diferentes grupos. Mientras que no se observó en ningún caso en los grupos I, II y III, se encontró en el 20 % de las placentas de los grupos de control y V (gestantes con líquido meconial); en el 40 % de las placentas del grupo VI (parto pretérmino con bolsa íntegra) y IV (corioamnionitis sintomáticas). En el grupo VII (pretérminos con RPM) se encontró en un 60 %.

Cuando se comparan los resultados obtenidos en los diferentes grupos de estudio, se observa que la frecuencia del edema vellositario es superior, de forma estadísticamente significativa, en el grupo VII.

5.1.2 HALLAZGOS MORFOLOGICOS EN LAS MEMBRANAS OVULARES

Las membranas ovulares se han estudiado, des

TABLA 5.4

NUMERO DE VASOS SANGUINEOS FETALES EN LAS VELLOSIDADES TERMINALES

GRUPO DE ESTUDIO	VELLOSIDADES SUBCORIALES	VELLOSIDADES INTERMEDIAS	VELLOSIDADES PARABASALES
CONTROL	3,68	3,57	4,20
I	3,76	4,08	4,24
II	4,04	4,24	3,72
III	4,12	4,60	4,22
IV	3,76	4,20	4,32
V	3,24	3,72	3,92
VI	3,40	3,52	3,76
VII	4,48	3,40	3,48

de el punto de vista morfológico, diferenciando histológicamente el amnios del corion. En el amnios se ha evaluado el grado de madurez del epitelio amniótico, mientras que en el corion se ha cuantificado el número de vellosidades atróficas y el de capas celulares de citotrofoblasto.

5.1.2.1 Amnios: grado de madurez del epitelio

En la TABLA 5.5 se expresan las semanas de amenorrea (\bar{x}) de los diferentes grupos de estudio y en las columnas adyacentes, la edad de la gestación estimada mediante la evaluación del grado de madurez del epitelio amniótico de la placental y de las membranas ovulares (FIGURA 5.3 y 5.4, respectivamente).

En general, la estimación de la edad gestacional en función del grado de madurez, según el epitelio amniótico de la placental, presenta una mayor correlación que la del epitelio amniótico de las membranas. Por otra parte, en todos los grupos en los que el parto tuvo lugar "a término", excepto en los que presentaron meconio (grupo V), la estimación de la edad gestacional a través del grado de madurez del epitelio amniótico de la placental fue muy exacta.

TABLA 5.5

ESTIMACION DE LA EDAD GESTACIONAL EN FUNCION DEL GRADO DE MADU -
REZ DEL EPITELIO AMNIOTICO

GRUPO	SEMANAS DE AMENORREA	EDAD DE GESTACION ESTIMADA	
		Amnios de la placa corial	Amnios de las membranas
CONTROL	39,6	39,6	38,6
I	40,7	39,8	37,5
II	40,2	40	38,5
III	40,2	40,4	38,4
IV	38,4	39	37,1
V	41,2	40	37,2
VI	31,6	36,5	36
VII	34	38	36,8

5.1.2.2 Corion

* Vellosidades atróficas

Se procedió a cuantificar el número de vellosidades |
atróficas en el corion de las membranas ovulares. Los valores me |
dios de vellosidades por campo de 10 aumentos oscilan entre el |
0,2 en el grupo II (más de 12 horas de BR) y 1,1 en el grupo I |
(6-12 horas de BR).

No se observaron diferencias significativas entre los |
diferentes grupos de estudio.

* Número de capas de células citotrofoblásticas

El número medio de capas de células citotrofoblásticas |
existentes en el corion (FIGURA 5.5) osciló entre 2,3 (grupo VI) |
y 4,8 (grupo V). Como puede observarse en la TABLA 5.6, el núme- |
ro de capas citotrofoblásticas aumenta en relación directa con |
el tiempo de bolsa rota.

5.1.3 HALLAZGOS MORFOLOGICOS EN LA DECIDUA PARIETAL

TABLA 5.6

NUMERO DE CAPAS DE CELULAS CITOTROFOBLASTICAS Y DE CELULAS DECIDUALES EN EL CORION Y EN LA DECIDUA PARIETAL, RESPECTIVAMENTE

GRUPO DE ESTUDIO	CC	CD
CONTROL	3,6	4
I	3,8	3,8
II	3,3	6,5
III	4,2	8,4
IV	4	8,4
V	4,8	8,8
VI	2,3	12,7
VII	4,5	7,3

El estudio histológico de las membranas ovulares permite evaluar parte de la decidua parietal, ya que en el alumbramiento se desprende una porción de ella, adherida al corion. Como parámetro morfológico y cuantificable de dicha decidua hemos evaluado el número de capas deciduales (FIGURA 5.6) que oscilaron entre 3,8 (grupo I) y 12,7 (grupo VI).

A pesar de que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos de estudio, puede observarse de forma evidente (TABLA 5.6) como el número de capas de células deciduales aumenta de forma directamente proporcional al tiempo de bolsa rota.

5.2 RECUESTO LEUCOCITARIO

Con objeto de evaluar el grado de infiltración leucocitaria, en relación con el tiempo de bolsa rota, la edad gestacional en el momento del parto y la presencia de hipertermia materna, hemos realizado el recuento leucocitario en la placenta, las membranas ovulares y el cordón umbilical de cada uno de los casos estudiados, así como en la sangre materna y en la fetal en el momento del parto.

5.2.1 RECUESTO LEUCOCITARIO EN LA PLACENTA

En la placenta se procedió a realizar el recuento de polimorfonucleares, de monocitos y de linfocitos.

5.2.1.1 Polimorfonucleares

El recuento de PMN dentro de la placenta fue realizado en cinco localizaciones diferentes: en la placa corial, entre las vellosidades subcoriales, entre las vellosidades intermedias, entre las vellosidades parabasales y en la placa basal.

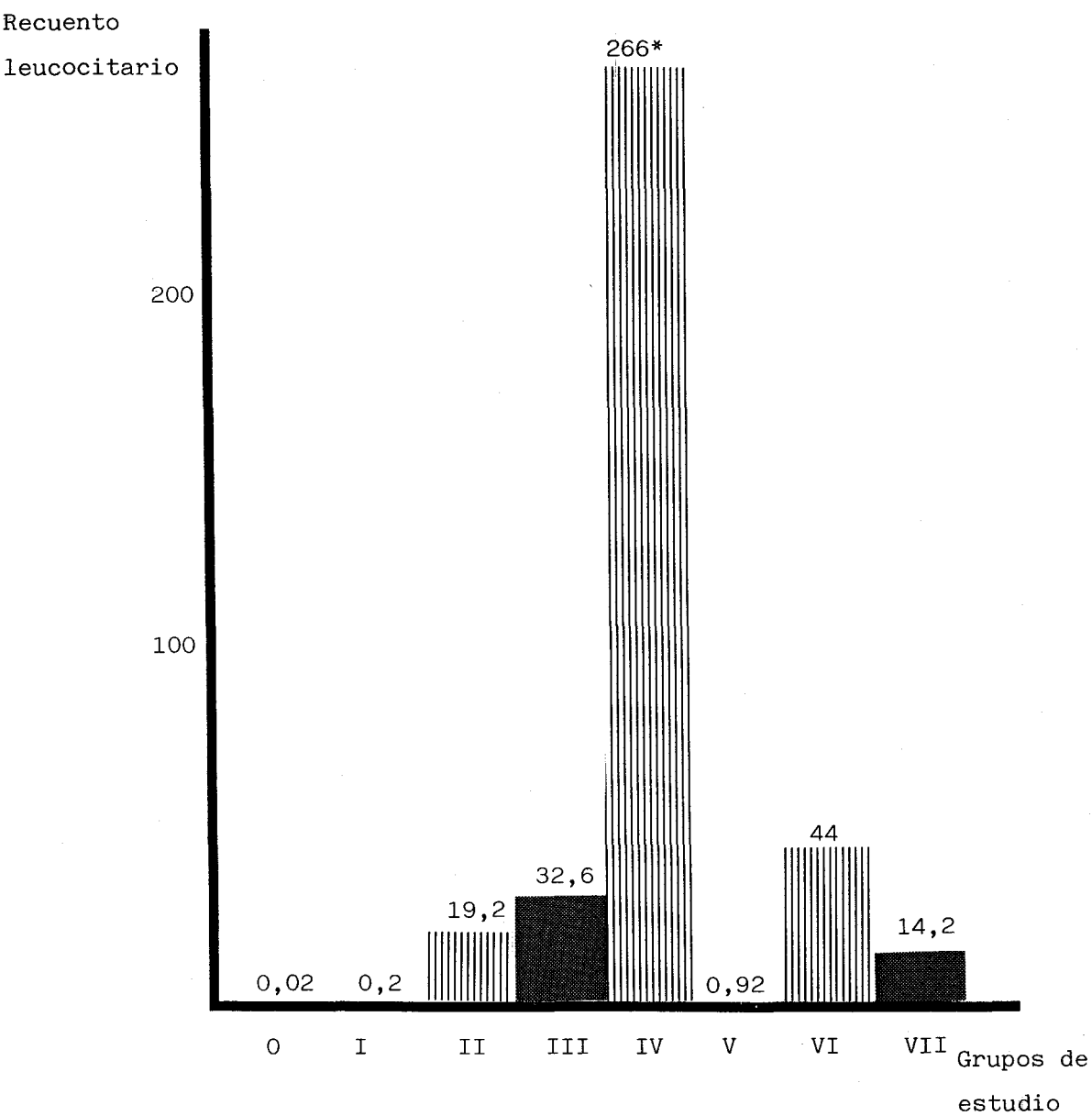
* Placa corial: el número medio (\bar{x}) de PMN, distribuidos por grupos de estudio, se expresa en la FIGURA 5.7. Los resultados muestran unos valores que oscilan entre 0,02 PMN/campo, en el grupo de control, hasta 266,2 PMN/campo, en el grupo de mujeres que presentaron fiebre intraparto (grupo IV)(FIGURA 5.8). Puede observarse como, a medida que aumenta el tiempo de bolsa rota, se incrementa el número de PMN en progresión geométrica.

En el grupo de placentas procedentes de pacientes con líquido amniótico meconial (grupo V) no existen grandes diferencias respecto del grupo de control.

Finalmente, llama la atención el hecho de que haya un mayor número de PMN/campo en la placa corial del las pla

FIGURA 5.7

RECuento LEUCOCITARIO (PMN/CAMPO) EN LA PLACA CORIAL DE LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO



* Diferencias significativas: $p < 0,05$

centas del grupo de pretérminos con bolsa íntegra (grupo VI) que en aquéllas que tenían la bolsa rota (grupo VII).

Las diferencias fueron estadísticamente significativas para la totalidad de los grupos ($p < 0,05$). Al realizar el estudio estadístico, grupo a grupo, fue el grupo IV el que presentó diferencias significativas con todos los demás.

* Vellosidades subcoriales: el número de PMN en los grupos de control y I es superior en las vellosidades subcoriales que en la placa corial (FIGURA 5.9). En cambio, a partir del grupo II, se observa que el número es muy inferior en las vellosidades subcoriales que en la placa corial. Los resultados obtenidos oscilan entre 0,52 PMN/campo, en el grupo VII, y 3,46, en el grupo IV (FIGURA 5.10).

Solamente se han podido constatar en el grupo IV diferencias significativas.

* Vellosidades de la región intermedia de la placenta: El recuento de PMN es similar al del apartado anterior (FIGURA 5.11), disminuyendo en relación a los resultados obtenidos en la placa corial. El número de PMN/campo oscila entre 0,54, en el grupo V (meconio intraparto) y 3,7, en el grupo IV (fiebre materna)

Se han observado diferencias significativas

FIGURA 5.9

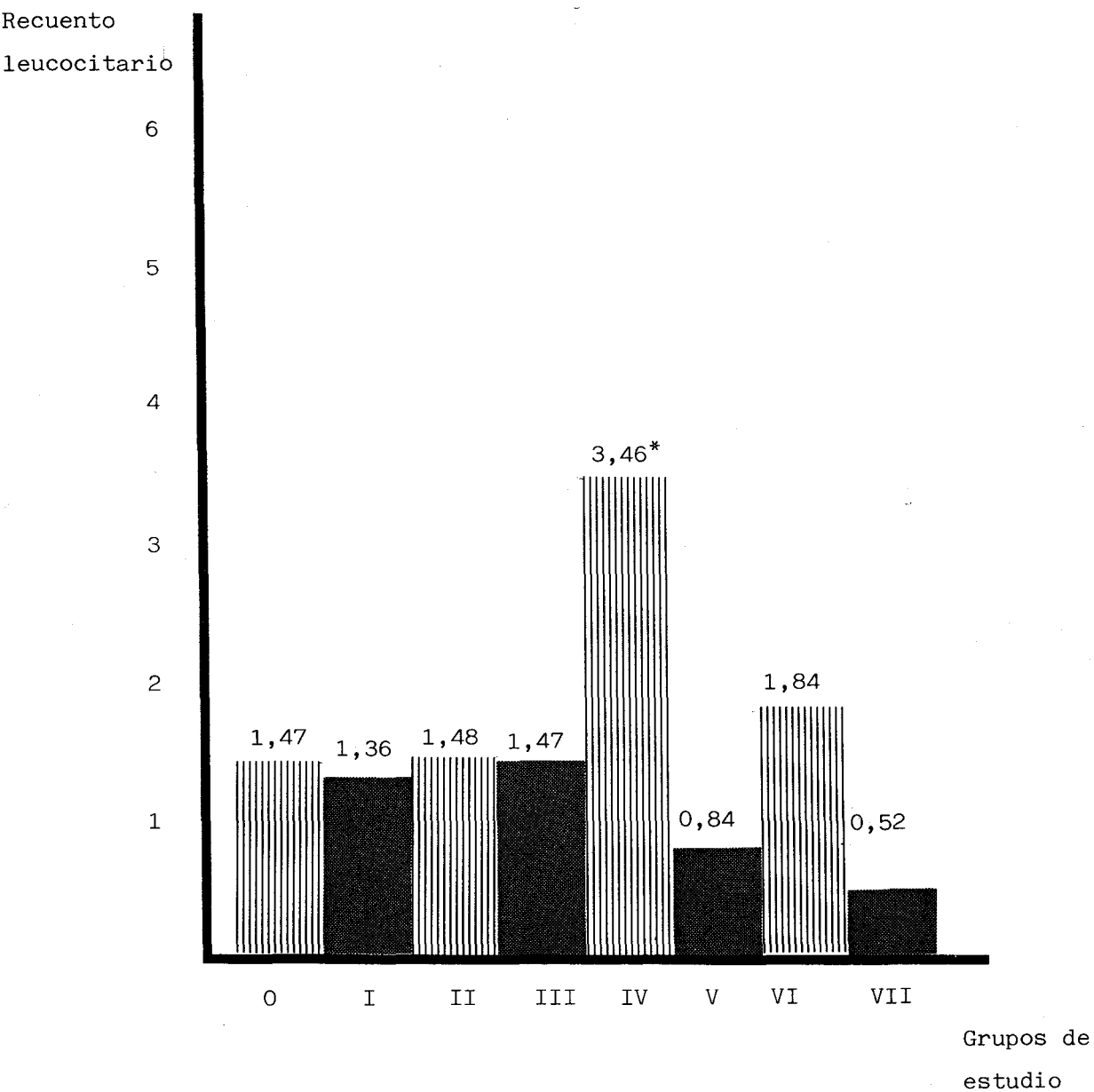
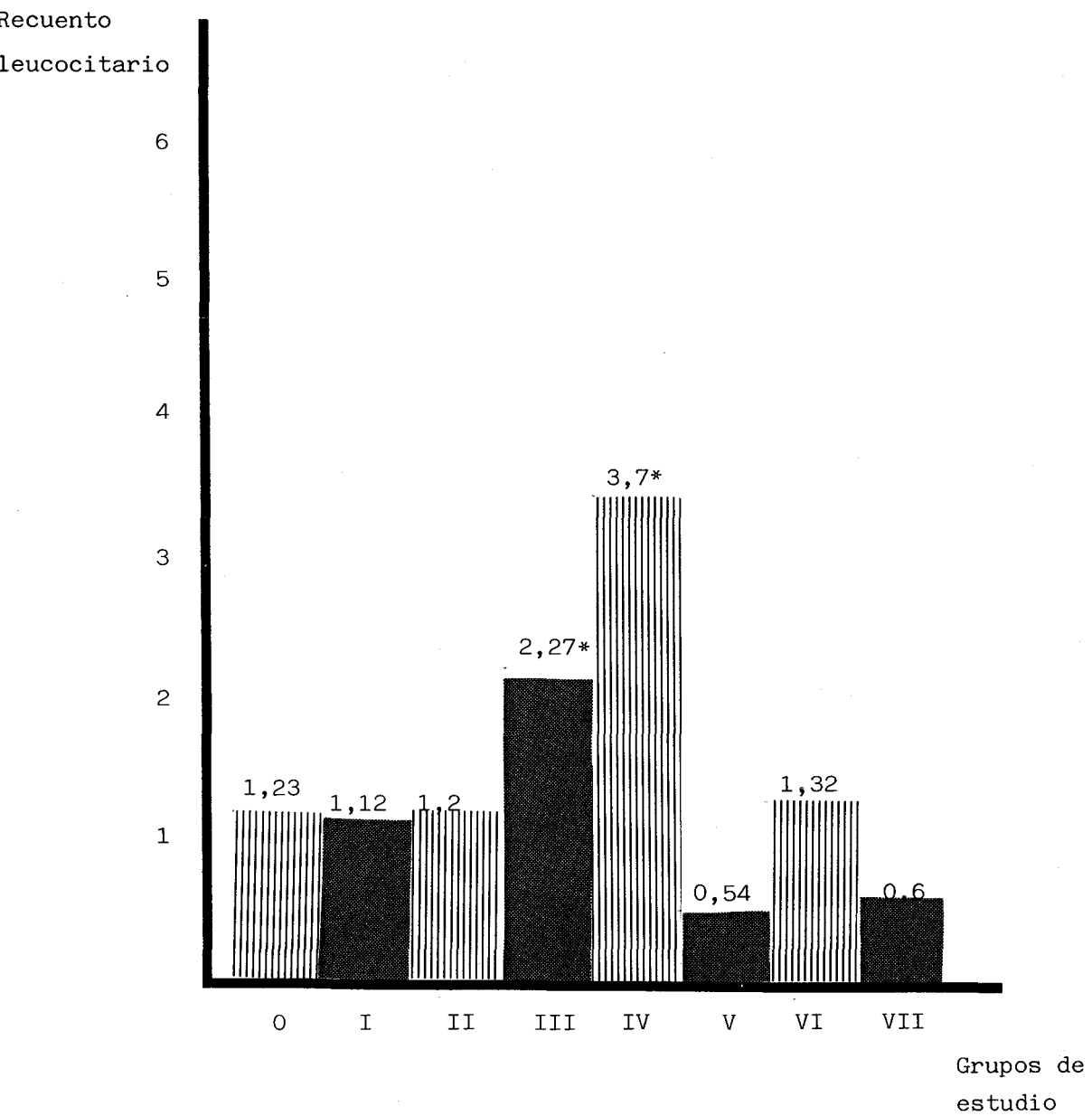
RECUESTO LEUCOCITARIO INTERVELLOSITARIO EN LA ZONA SUBCORIAL* $p < 0,05$

FIGURA 5.11

RECUESTO LEUCOCITARIO INTERVELLOSITARIO EN LA ZONA INTERMEDIA* $p < 0,05$

en los grupos III (más de 24 horas de BR) y IV (fiebre materna), siendo en este último más acentuadas.

* Vellosidades de la zona parabasal: entre las vellosidades adyacentes a la placa basal, el número de PMN/campo, oscila desde 0,52, en el grupo VII, hasta 8,3 , en el grupo IV (FIGURA 5.12). Los resultados son similares a los obtenidos en los apartados anteriores, apreciándose un aumento significativo en el grupo de fiebre materna (FIGURA 5.13).

* Placa basal: la presencia de PMN en la placa basal es muy escasa (FIGURA 5.14), estando ausentes en el grupo VII (pretérminos con bolsa rota) y alcanzando el máximo, 0,16 PMN/campo, en el grupo II (BR entre 6 y 12 horas).

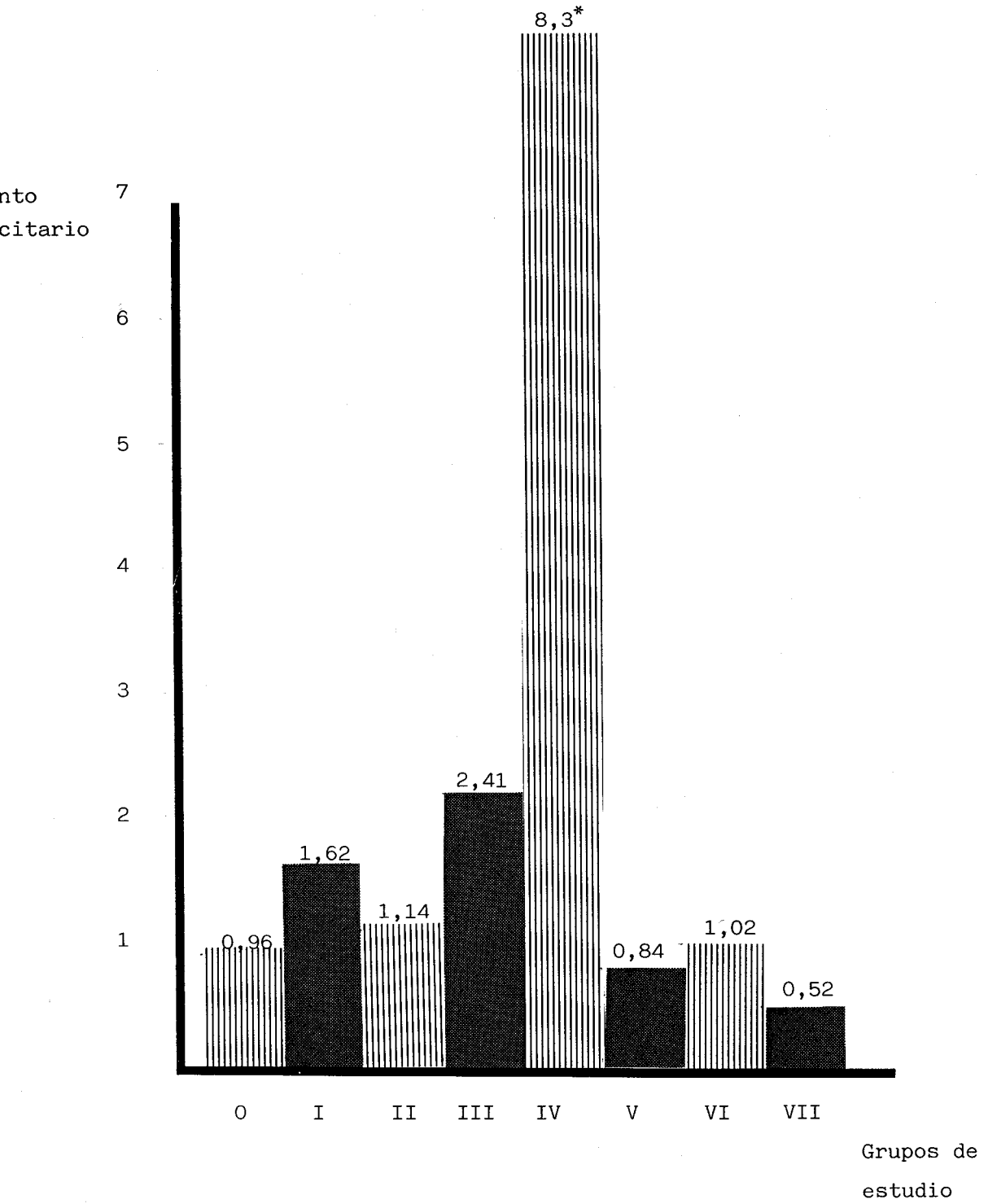
No se apreciaron diferencias significativas.

5.2.1.2 Monocitos

Se ha estudiado el número de monocitos por campo en la región intermedia del espesor placentario, representándose los resultados obtenidos por grupos de estudio en la FIGURA 5.15. Los valores medios oscilan entre 0,14 monocitos/campo en el grupo II y 0,72 monocitos /campo en el grupo IV. Las dife-

FIGURA 5.13

RECuento leucocitario intervellositario en la zona parabasal



* $p < 0,05$

FIGURA 5.14

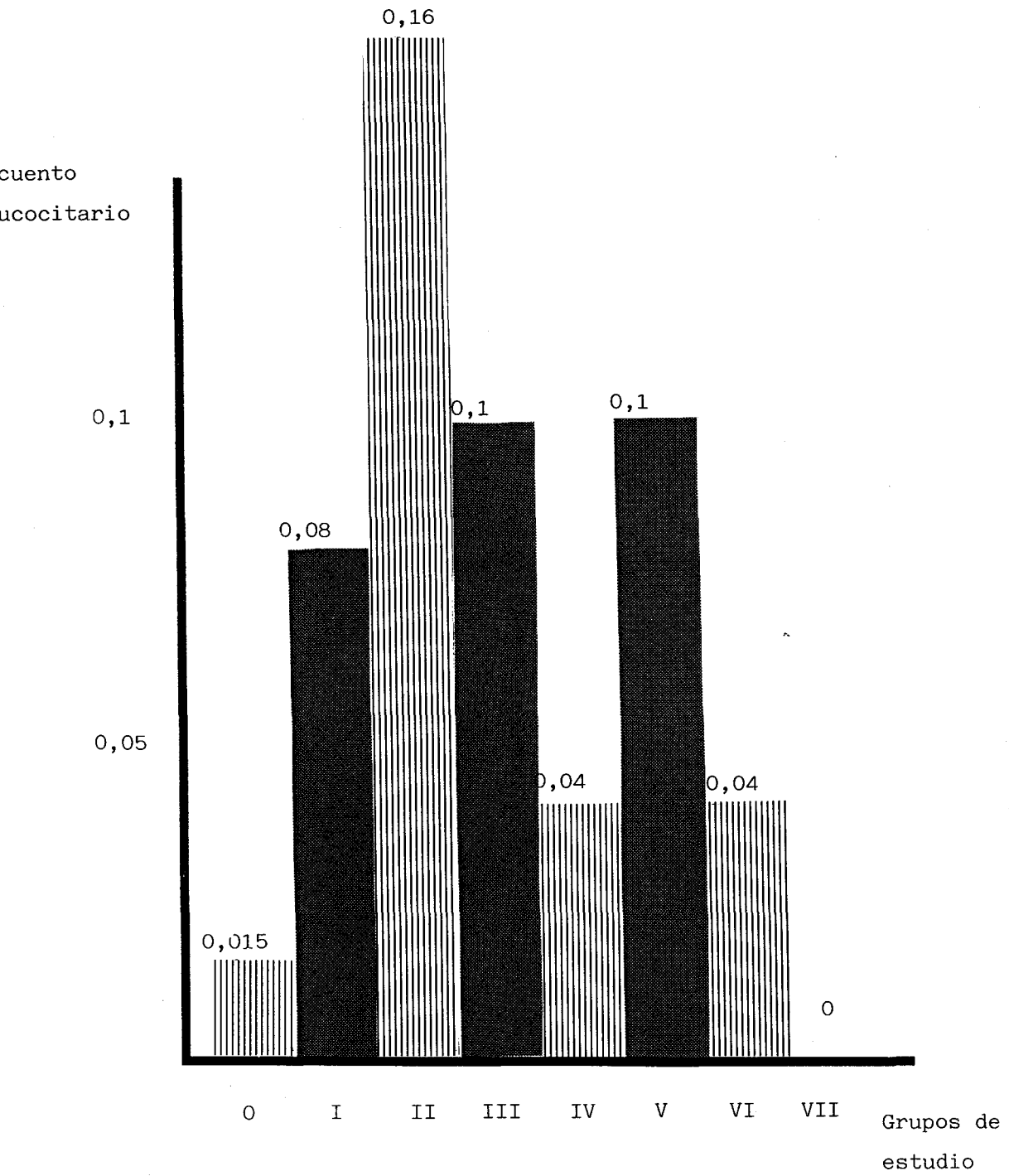
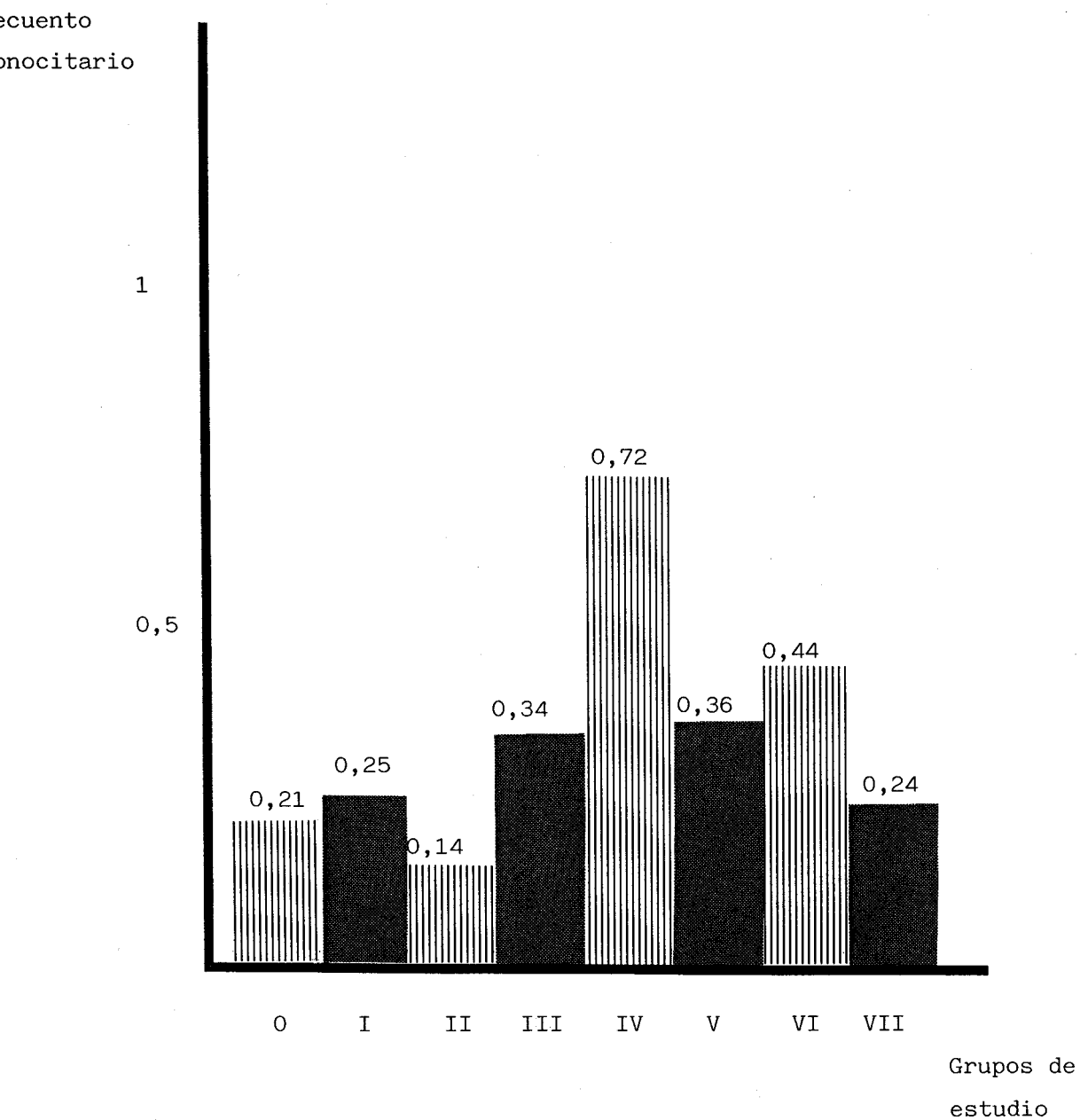
RECUENTO LEUCOCITARIO EN LA PLACA BASAL

FIGURA 5.15

RECUESTO DE MONOCITOS INTERVELLOSITARIOS EN LA ZONA INTERMEDIA
DEL ESPESOR PLACENTARIO



rencias observadas entre los diferentes grupos no fueron significativas.

5.2.1.3 Linfocitos

El grado de infiltración linfocitaria fue estudiado en la placa basal. En la FIGURA 5.16 se representa, en ordenadas, el porcentaje de casos de cada grupo, en el que se observó infiltración linfocitaria y, en abscisas, el grupo de estudio. Puede observarse que este tipo de infiltración osciló entre el 10 % de los casos del grupo de control y el 70 % de los casos del grupo III (FIGURA 5.17).

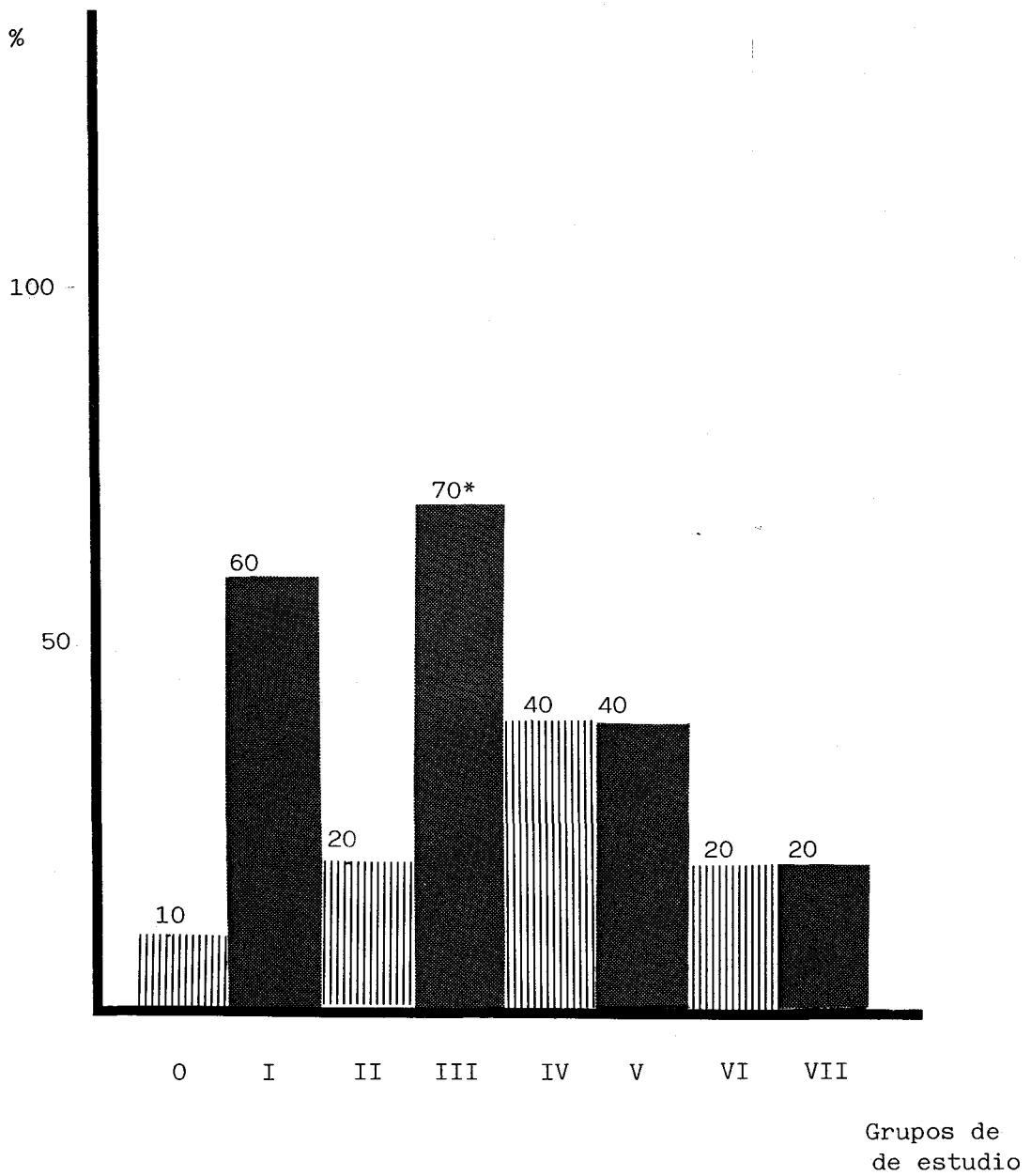
No existen diferencias significativas cuando se comparan globalmente los resultados, aunque sí existen en el caso del grupo III respecto de los demás.

La infiltración linfocitaria de la placa basal ha sido relacionada con la aparición de corioamnionitis, no habiendo diferencias significativas entre aquellos casos de infección amniótica (33,3 % de infiltraciones linfocitarias) y los que no la padecieron (31,1 % de infiltraciones linfocitarias).

También ha sido relacionada con el mecanismo de alumbramiento, encontrándose que el 55 % de los de tipo Schul

FIGURA 5.16

INFILTRACION LINFOCITARIA DE LA PLACA BASAL EN LOS DIFERENTES
GRUPOS DE ESTUDIO



$p < 0,05$

ze tenían dicha infiltración en la placa basal, frente al 14,3 % en los de tipo Duncan y el 31,3 % en los alumbramientos manuales. Las diferencias son significativas.

Finalmente, no se ha podido encontrar alguna relación entre la infiltración linfocitaria de la placa basal y el recuento linfocitario materno o fetal en la sangre periférica.

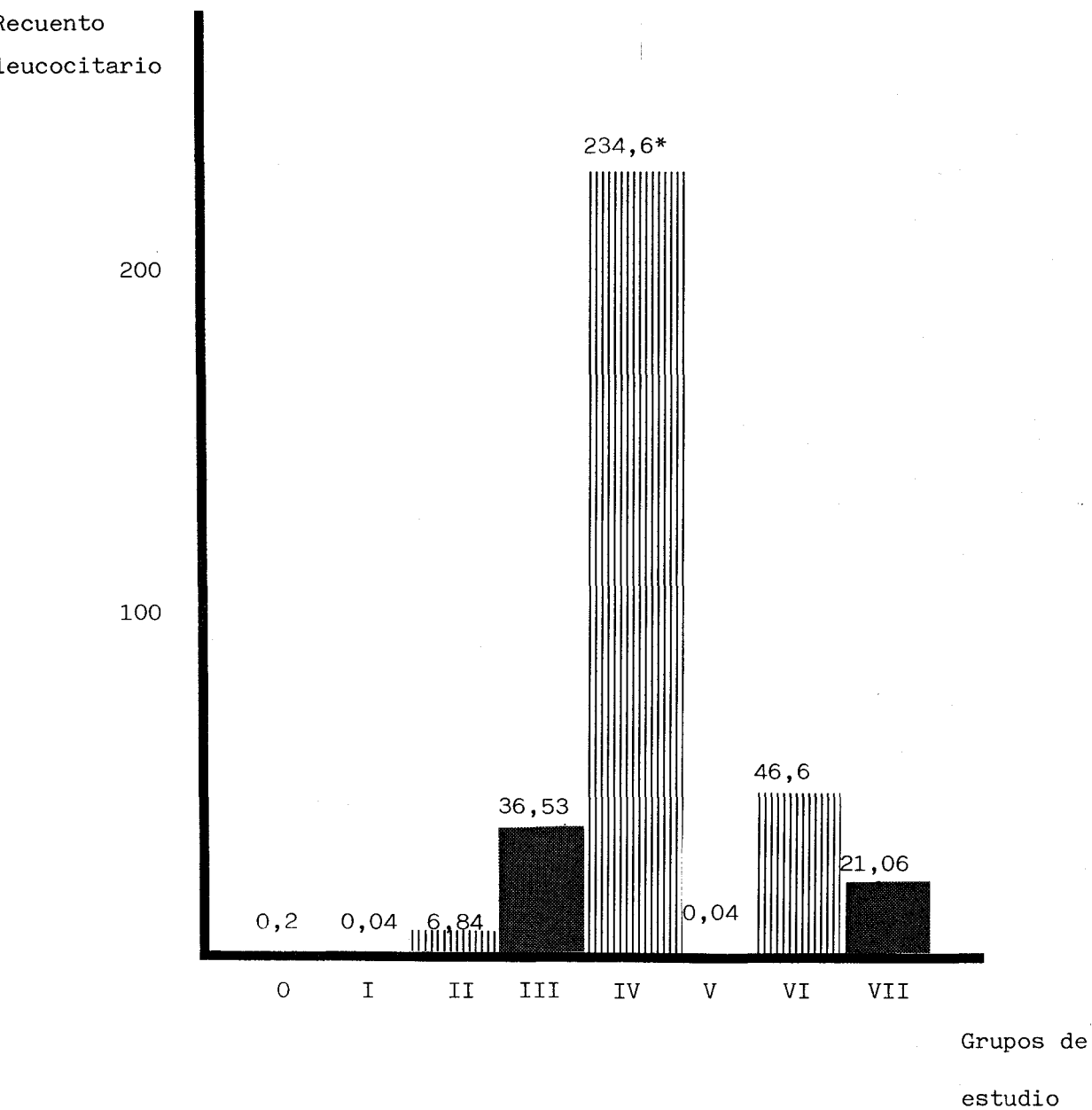
5.2.2 RECUESTO LEUCOCITARIO EN LAS MEMBRANAS OVULARES

En las membranas ovulares se procedió a realizar el recuento de leucocitos PMN siguiendo la metodología empleada en los casos anteriores. En la FIGURA 5.18 se representan los valores obtenidos por campo en cada grupo de estudio, que oscilaron entre 0,04 , en el grupo I, y 234 , en el grupo IV (FIGURA 5.19). Se puede observar como el número de PMN/campo aumenta siguiendo una progresión geométrica, en relación al tiempo de rotura de membranas.

Al igual que ocurría en el recuento de PMN realizado en la placa corial, en los casos en los que existía meconio no se observó un aumento de la tasa de PMN.

FIGURA 5.18

RECUESTO LEUCOCITARIO (PMN/CAMPO) EN LAS MEMBRANAS OVULARES DE
LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO



$p < 0,05$

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el total de los grupos, siendo el grupo IV, el que presentó mayores diferencias cuando se comparó con los de más grupos.

5.2.3 RECUESTO LEUCOCITARIO EN EL CORDON UMBILICAL

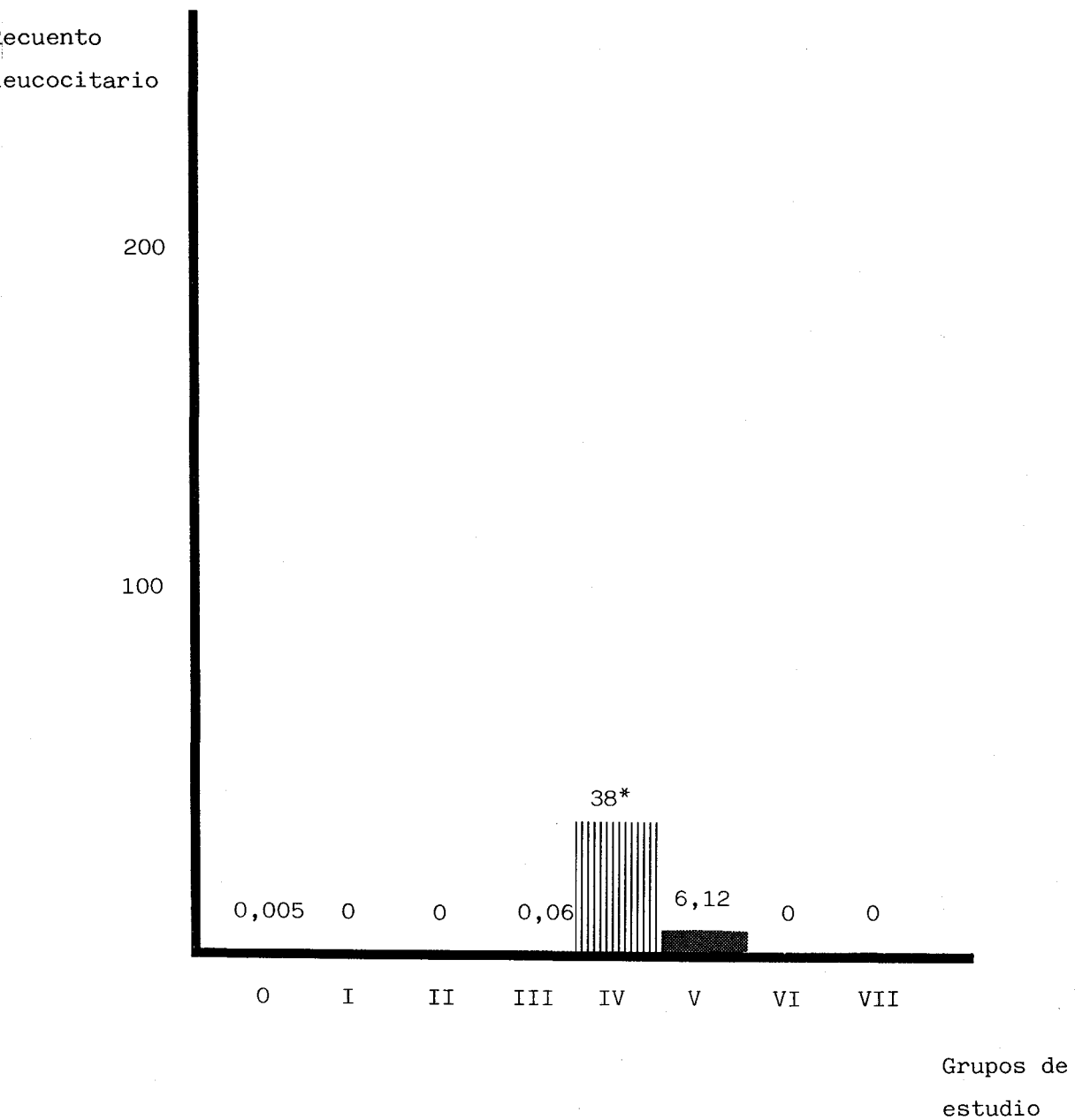
El recuento de leucocitos PMN en el cordón umbilical se representa en la FIGURA 5.20. No se observaron leucocitos en ninguno de los casos de los grupos I, II, VI y VII y oscilaron entre 0,005 PMN/campo, en el grupo de control y 38,8, en el grupo de mujeres con hipertermia (grupo IV)(FIGURA 5.21). Es de destacar que los valores leucocitarios fueron mucho más bajos que los encontrados en la placenta o en las membranas ovulares.

Las diferencias del conjunto son estadísticamente significativas ($p < 0,05$) y, cuando realizamos el análisis de la varianza, el grupo IV muestra grandes diferencias con el resto de los grupos de estudio.

5.2.4 RECUESTO Y FORMULA LEUCOCITARIA EN LA SANGRE MATERNA EN EL MOMENTO DEL PARTO

FIGURA 5.20

RECUESTO LEUCOCITARIO (PMN/CAMPO) EN EL CORDON UMBILICAL DE LOS
DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO



Los valores medios ($\bar{x} \pm$ d.s.) de leucocitos en la sangre materna y la fórmula leucocitaria de todos los grupos de estudio se exponen en la TABLA 5.7. En las FIGURAS 5.22, 5.23, 5.24, 5.25 y 5.26 se representan los valores medios obtenidos en el recuento de monocitos, linfocitos, cayados y segmentados, respectivamente.

En general, se aprecia un aumento progresivo de leucocitos en la sangre materna relacionado con el tiempo de bolsa rota, siendo las diferencias significativas ($p < 0,05$). Cuando se comparan los diferentes grupos de estudio entre sí, el grupo IV presenta grandes diferencias, estadísticamente significativas, respecto de todos los demás.

El recuento de leucocitos basófilos y eosinófilos se encuentran dentro del rango de la normalidad, no existiendo diferencias intragrupales. Tampoco existen diferencias significativas en el recuento de monocitos, linfocitos, cayados y segmentados amternos.

5.2.5 RECuento Y FORMULA LEUCOCITARIA EN LA SANGRE FETAL EN EL MOMENTO DEL NACIMIENTO

Los valores medios ($\bar{x} \pm$ d.s.) de leucocitos

TABLA 5.7

DATOS HEMATOLOGICOS MATERNOS: RECUENTO Y FORMULA LEUCOCITARIA

GRUPO	RECUENTO	B	E	M	L	C	S
CONTROL	13.580 \pm 4.509	0	0,5	2,3	14,7	0,4	82,1
I	14.660 \pm 3.790	0	0	3,4	14	0	82,6
II	17.120 \pm 4.471	0	0,4	2,8	13,8	0	83
III	16.110 \pm 2.662	0,2	0,4	3,2	12,2	0	84
IV	25.360 \pm 5.660 *	0	0	4	11,6	2,6	81,8
V	13.220 \pm 2.359	0	0	4	12,2	0	83,8
VI	17.800 \pm 860	0	0	3	14,8	0	80,2
VII	14.950 \pm 4.496	0	0,4	3,2	11,8	0,4	84,2

B: basófilos; E:eosinófilos; M: monocitos; L:linfocitos; C:cayados; S:segmentados

*p<0,05

FIGURA 5.22

RECUENTO DE MONOCITOS EN LA SANGRE MATERNA DE LOS DIFERENTES GRU-
POS DE ESTUDIO

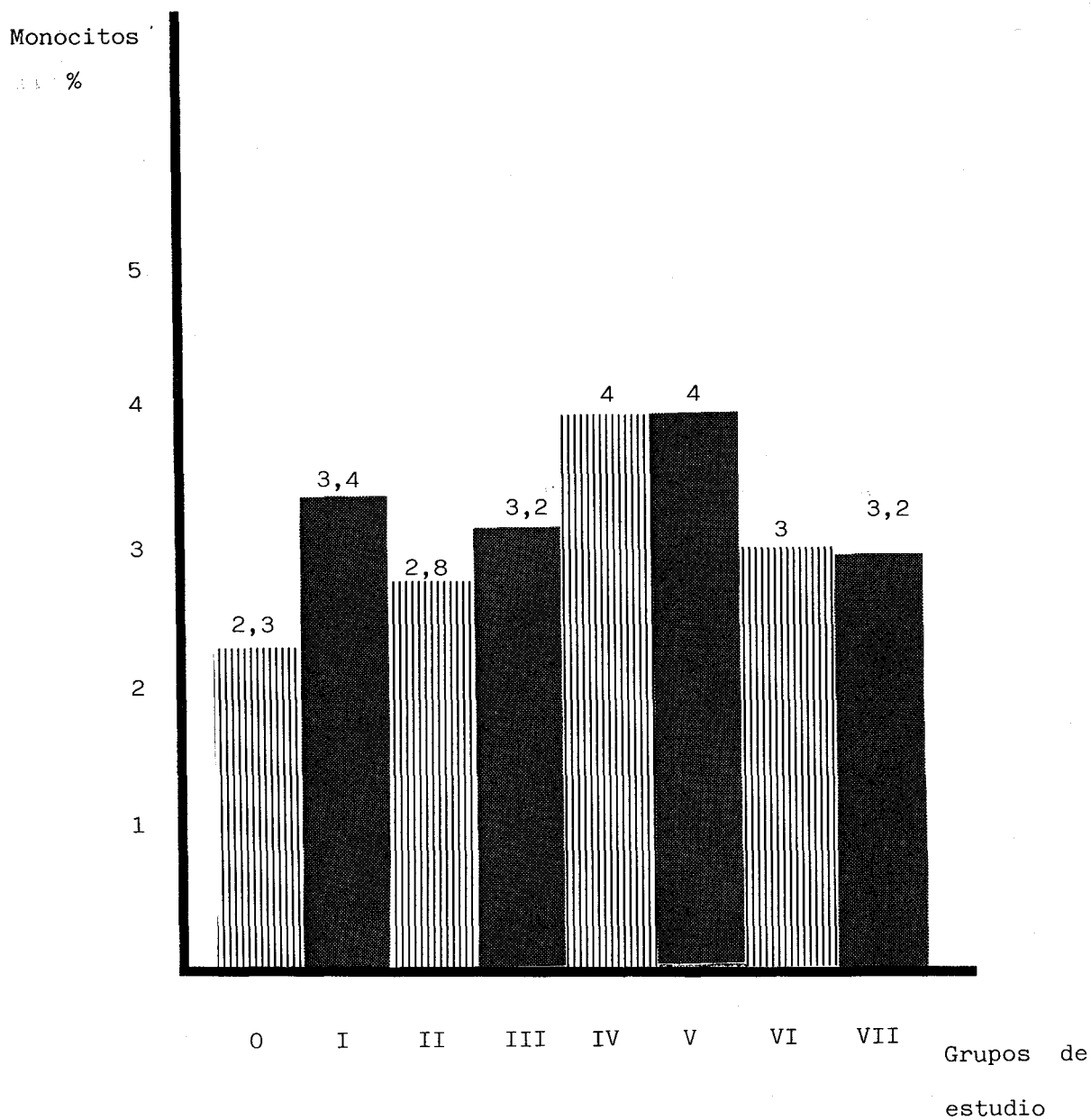


FIGURA 5.23

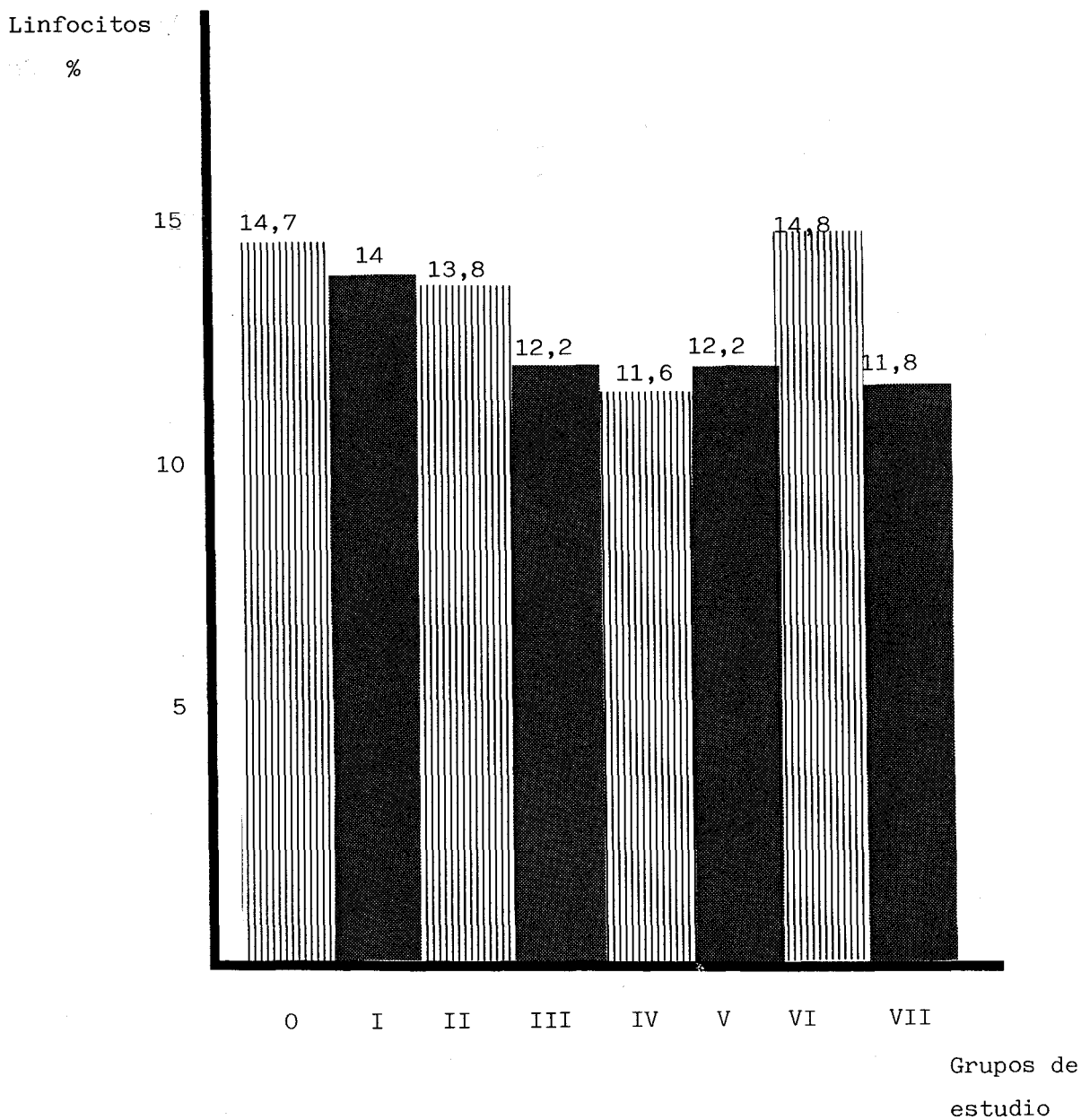
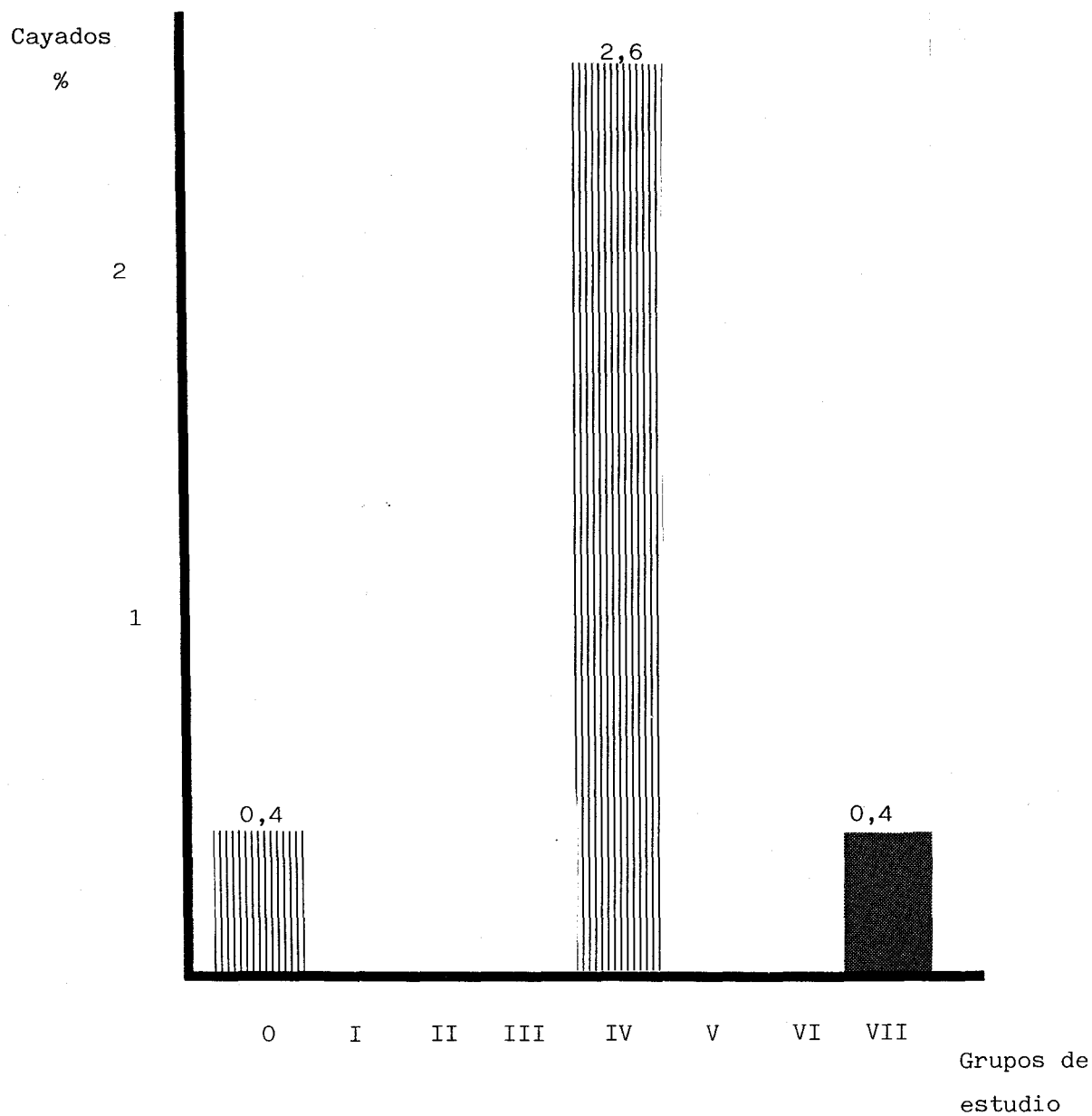
RECUESTO DE LINFOCITOS EN LA SANGRE MATERNA DE LOS DIFERENTESGRUPOS DE ESTUDIO

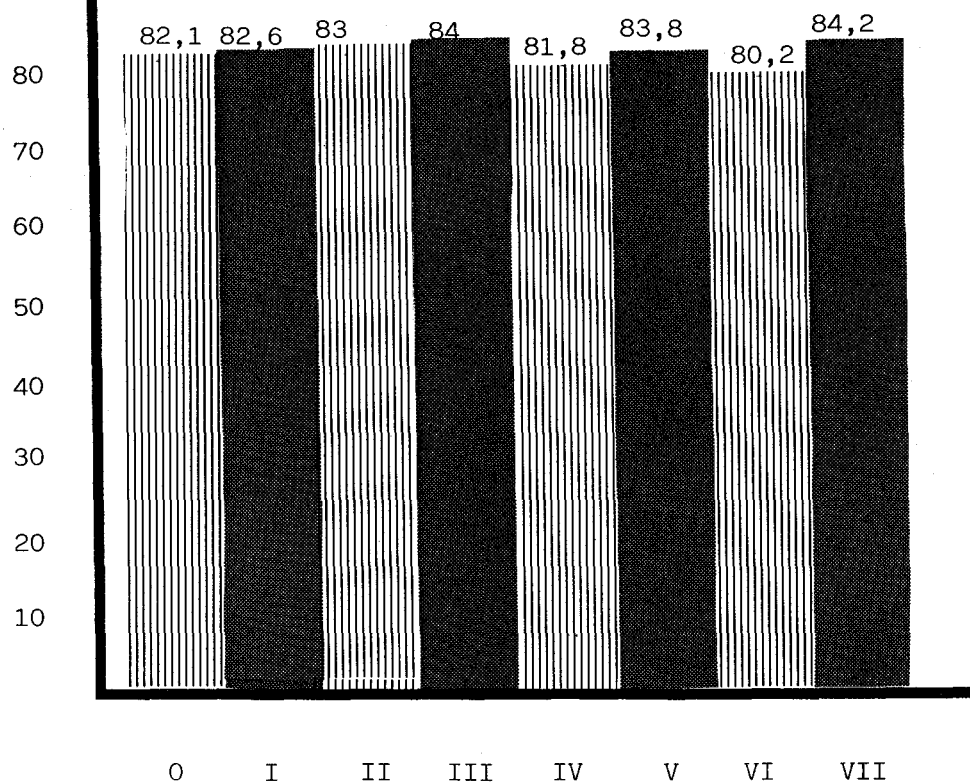
FIGURA 5.24

RECuento de PMN con morfología cayada en la sangre materna según
los diferentes grupos de estudio



RECUESTO DE PMN CON MORFOLOGIA SEGMENTADA EN LA SANGRE MATERNA
SEGUN LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO

Segmentados
%



Grupos de
estudio

FIGURA 5.26

RECUESTO DE PMN CON MORFOLOGIA SEGMENTADA EN LA SANGRE FETAL SE-
GUN LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO

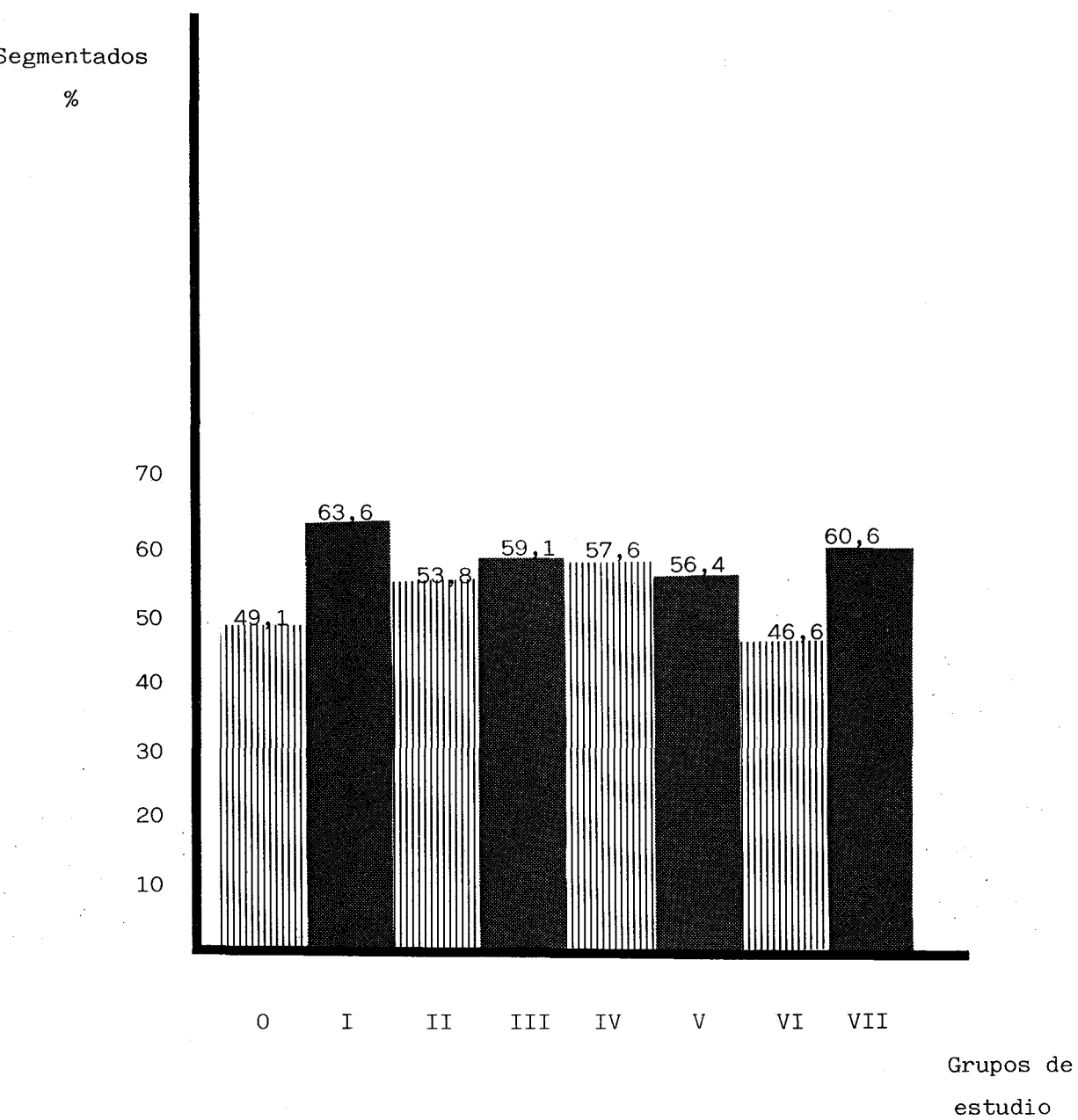


TABLA 5.8

DATOS HEMATOLOGICOS FETALES: RECUENTO Y FORMULA LEUCOCITARIA

GRUPO	RECUENTO	B	E	M	L	C	S
CONTROL	12.180 \pm 2.917	0,1	1,2	4,1	45,1	0,4	49,1
I	13.360 \pm 3.301	0	1,2	4	31,2	0	63,6
II	15.300 \pm 2.083	0	0,8	4,2	40,2	0	53,8
III	15.120 \pm 3.301	0,1	1,5	4,3	34,9	0,1	59,1
IV	16.920 \pm 6.030	0	0,4	4,6	36,8	0,6	57,6
V	18.200 \pm 8.176	0	3*	5,6	35	0	56,4
VI	16.100 \pm 2.000	0	0,4	3,8	49,2	0	46,6
VII	10.380 \pm 1.816	0	0,4	4,6	34,4	0	60,6

B: basófilos; E:eosinófilos; M: monocitos; L: linfocitos; C:cayados; S:segmentados

*p<0,05

en la sangre del neonato y la fórmula leucocitaria se exponen en la TABLA 5.8. En la FIGURA 5.26 se representan los valores medios obtenidos en el recuento de segmentados.

Cuando se analizan los resultados en el recuento leucocitario fetal, se aprecia un aumento progresivo -aunque no significativo- en relación al tiempo de bolsa rota.

En la fórmula leucocitaria fetal no se aprecian diferencias significativas entre los diferentes grupos de estudio, exceptuando la cifra de eosinófilos en los embarazos complicados con meconio ($p < 0,05$).

5.2.6 ANALISIS CONJUNTO DE LOS RESULTADOS POR GRUPOS DE ESTUDIO

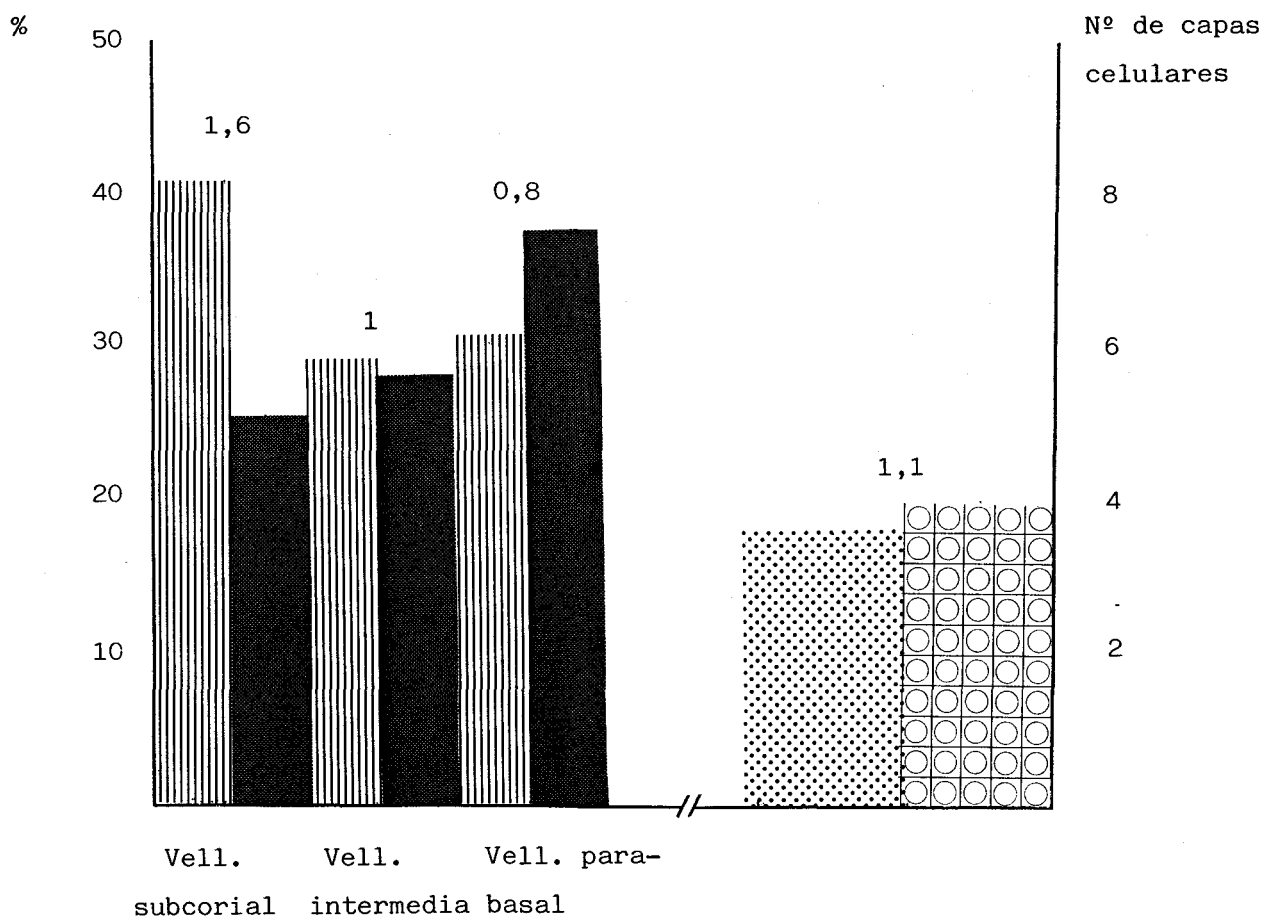
Al objeto de evaluar la relación existente entre los diferentes parámetros estudiados, se ha procedido a realizar un análisis conjunto de los mismos en los diferentes grupos.





5.2.6.1 Grupo de control (grupo 0)

En la FIGURA 5.27 se representan, mediante

FIGURA 5.27

REPRESENTACION DE LOS INDICES MORFOLOGICOS DEL GRUPO DE CONTROL



-  Nudos
-  MVS
-  Nº capas citotrofoblásticas
-  Nº capas deciduales

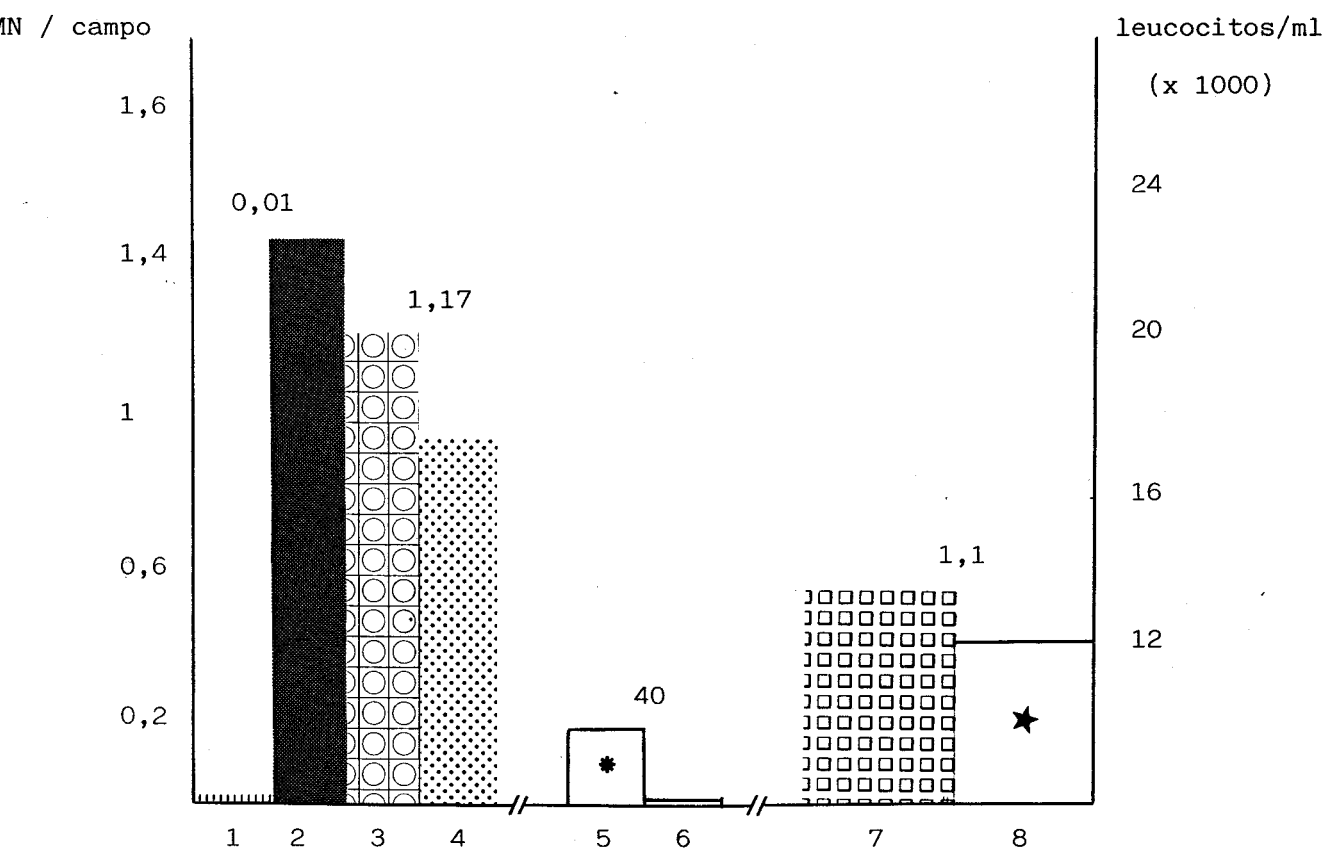
un histograma, los índices de algunos de los parámetros morfológicos, obtenidos al dividir el porcentaje de los nudos sincitiales por el porcentaje de las membranas vâsculo-sincitiales, en tres zonas placentarias (subcorial, intermedia y parabasal). Puede observarse como los nudos sincitiales disminuyen a medida que la vellosidad se acerca a la placa basal, mientras que las membranas vâsculo-sincitiales siguen una relación inversa. Consecuentemente, sus cocientes disminuyen a medida que la zona se aproxima a la superficie materna de la placenta.

En la misma figura 5.27 se representa el cociente de dividir el número de capas deciduales y el número de capas citotrofoblásticas, siendo en este grupo de 1,1.

El número de leucocitos por campo en las distintas regiones placentarias estudiadas, junto con los índices resultantes al dividir aquéllos por pares de zonas -placa corial, zona subcorial, zona intermedia, zona parabasal, membranas ovulares y cordón umbilical- se representan en la FIGURA 5.28. Los resultados muestran como el índice "PMN en la placa corial/ PMN en la zona subcorial" tiende a ser cero, mientras que el "PMN en la zona intermedia/ PMN en la zona parabasal" tiende a ser la unidad.

El índice resultante al calcular el cocien-

FIGURA 5.28

REPRESENTACION DE LOS INDICES LEUCOCITARIOS DEL GRUPO DE CONTROL

1: Placa corial

5: Membranas ovulares

2: Vellosidades subcoriales

6: Cordón umbilical

3: " intermedias

7: Recuento materno

4: " parabasales

8: Recuento fetal

te entre el recuento de PMN en la sangre materna y en la sangre fetal, es de 1,1 (FIGURA 5.28).

5.2.6.2 Grupo I (tiempo de bolsa rota entre 6 y 12 horas)

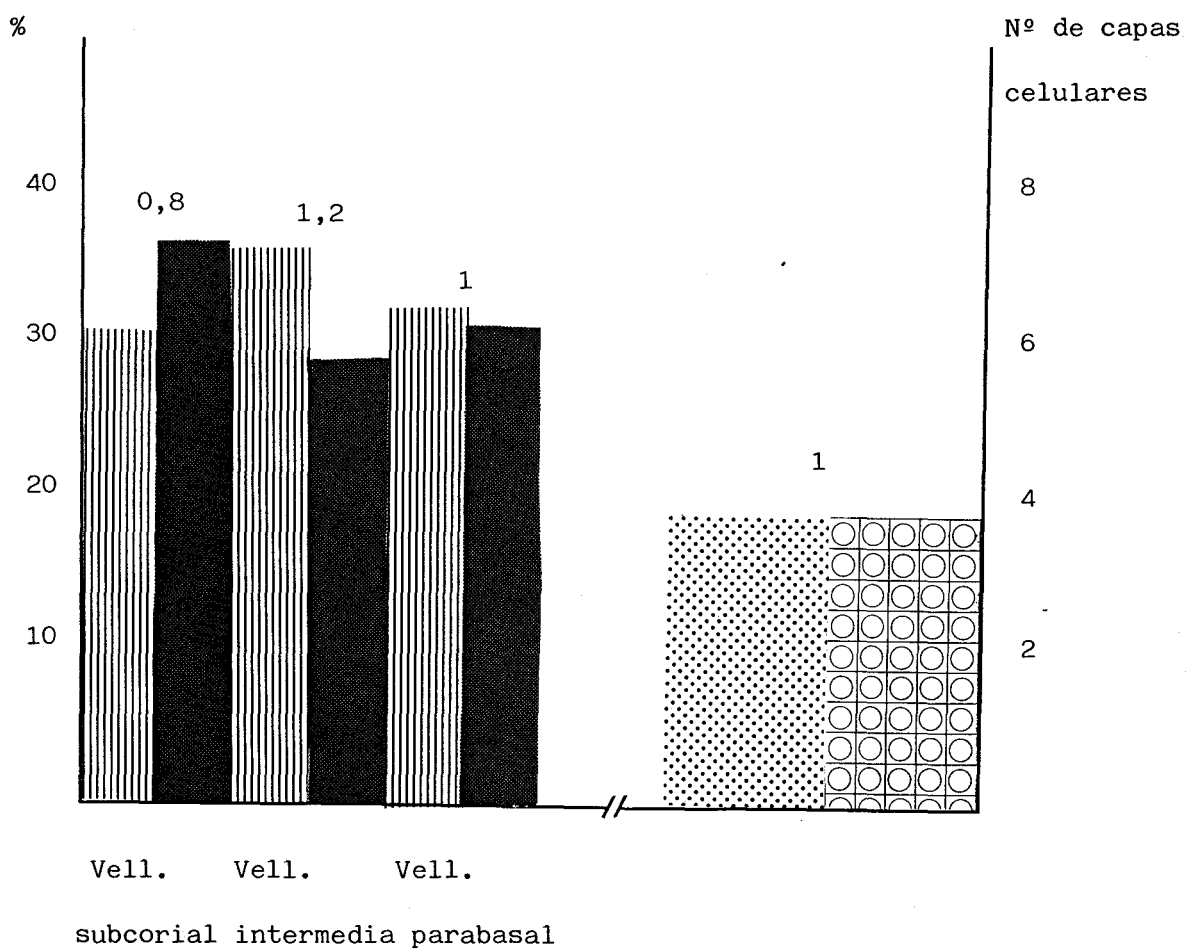
En la FIGURA 5.29 se representan, al igual que en el apartado anterior, algunos parámetros morfológicos placentarios del grupo I, con sus cocientes respectivos. En general, se aprecian unos índices cercanos a la unidad, deduciéndose que ninguno de los parámetros presenta grandes variaciones regionales, desde el punto de vista cuantitativo.

El cociente entre el número de capas deciduales y el número de capas citotrofoblásticas (FIGURA 5.29) es de 1. Ninguno de estos índices presenta diferencias significativas respecto de los del grupo de control.

En la FIGURA 5.30 se representan los índices calculados a partir del recuento leucocitario. Puede observarse como el cociente entre los PMN en la placa corial y los PMN en la zona subcorial asciende, significativamente, desde 0,01 en el grupo de control, hasta 0,15 en el grupo I. Los demás índices no experimentan ninguna variación estadística.

FIGURA 5.29

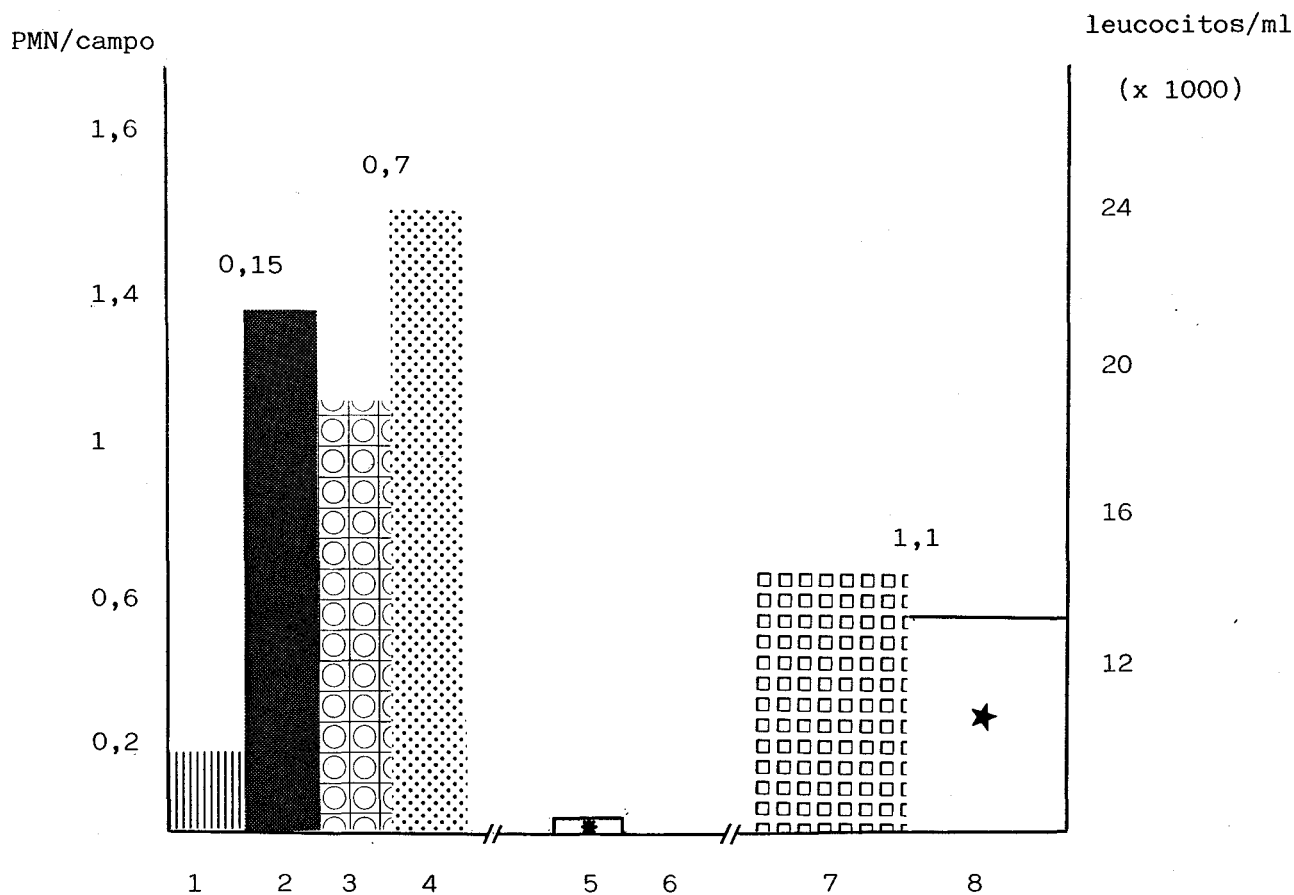
REPRESENTACION DE LOS INDICES MORFOLOGICOS DEL GRUPO I



- ||||| Nudos
- MVS
- Nº de capas citotrofoblásticas
- Nº de capas deciduales

FIGURA 5.30

REPRESENTACION DE LOS INDICES LEUCOCITARIOS DEL GRUPO I



1: Placa corial

5: Membranas ovulares

2: Vellosidades subcoriales

6: Cordón umbilical

3: " intermedias

7: Recuento materno

4: " parabasales

8: Recuento fetal

5.2.6.3 Grupo II (tiempo de bolsa rota entre 12 y 24 horas)

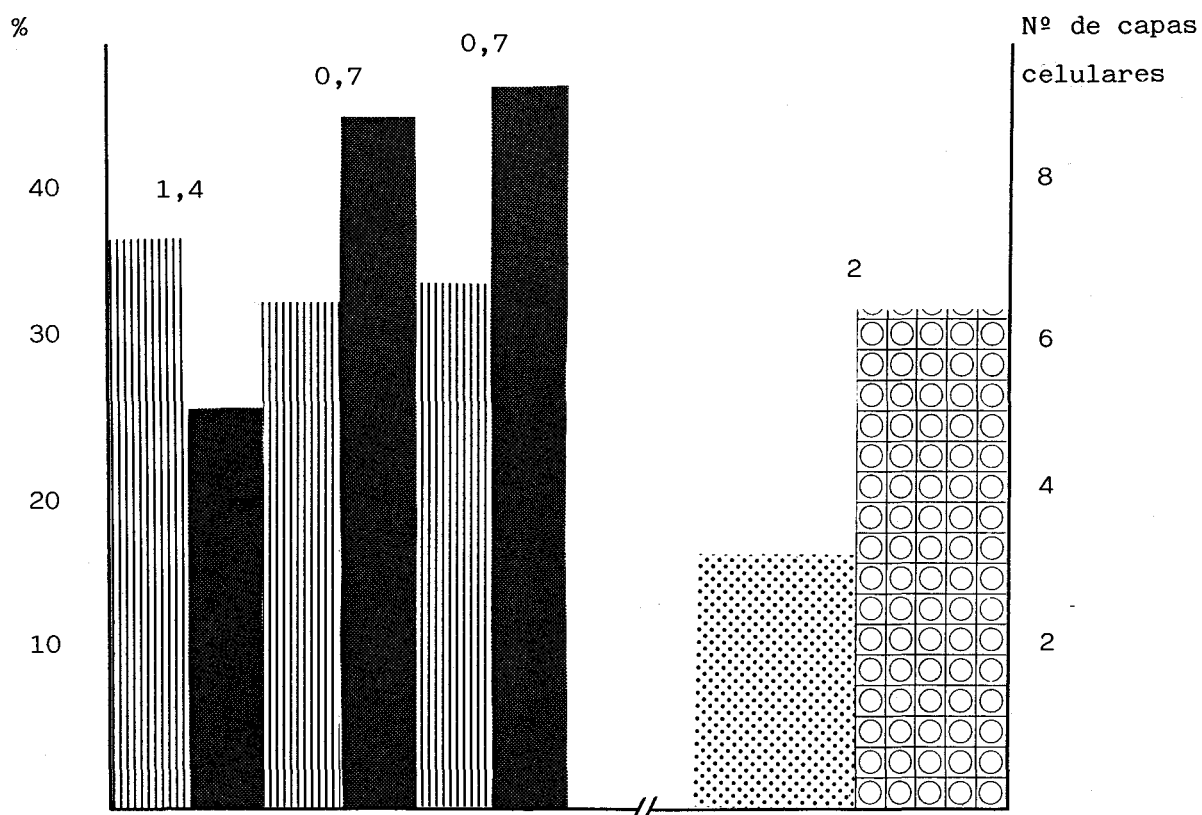
En la FIGURA 5.31 se representan los índices morfológicos (cocientes entre los nudos y las membranas vâsculo-sincitiales y entre las capas deciduales y citotrofoblásticas) de las placentas del grupo II. Se observa un ligero descenso de los nudos sincitiales en la zona parabasal y una relación inversa de las membranas vâsculo-sincitiales. Los índices no presentan diferencias significativas con los del grupo control. El valor del índice que relaciona el número de capas deciduales y citotrofoblásticas es el doble del obtenido en el grupo de control ($p < 0,05$).

Los índices leucocitarios hallados en las diferentes zonas placentarias, en las membranas ovulares, en el cordón umbilical, en la sangre materna y en la sangre fetal se representan en la FIGURA 5.32. Puede observarse un gran aumento del recuento de PMN en la placa corial, ascendiendo el índice respectivo hasta 13 (1300 veces superior al del grupo de control). El resto de los cocientes no experimentó variaciones significativas.

5.2.6.4 Grupo III (tiempo de bolsa rota superior a 24 horas)

FIGURA 5. 31

REPRESENTACION DE LOS INDICES MORFOLOGICOS DEL GRUPO II



Vell. Vell. Vell.

subcorial intermedia parabasal

Nudos

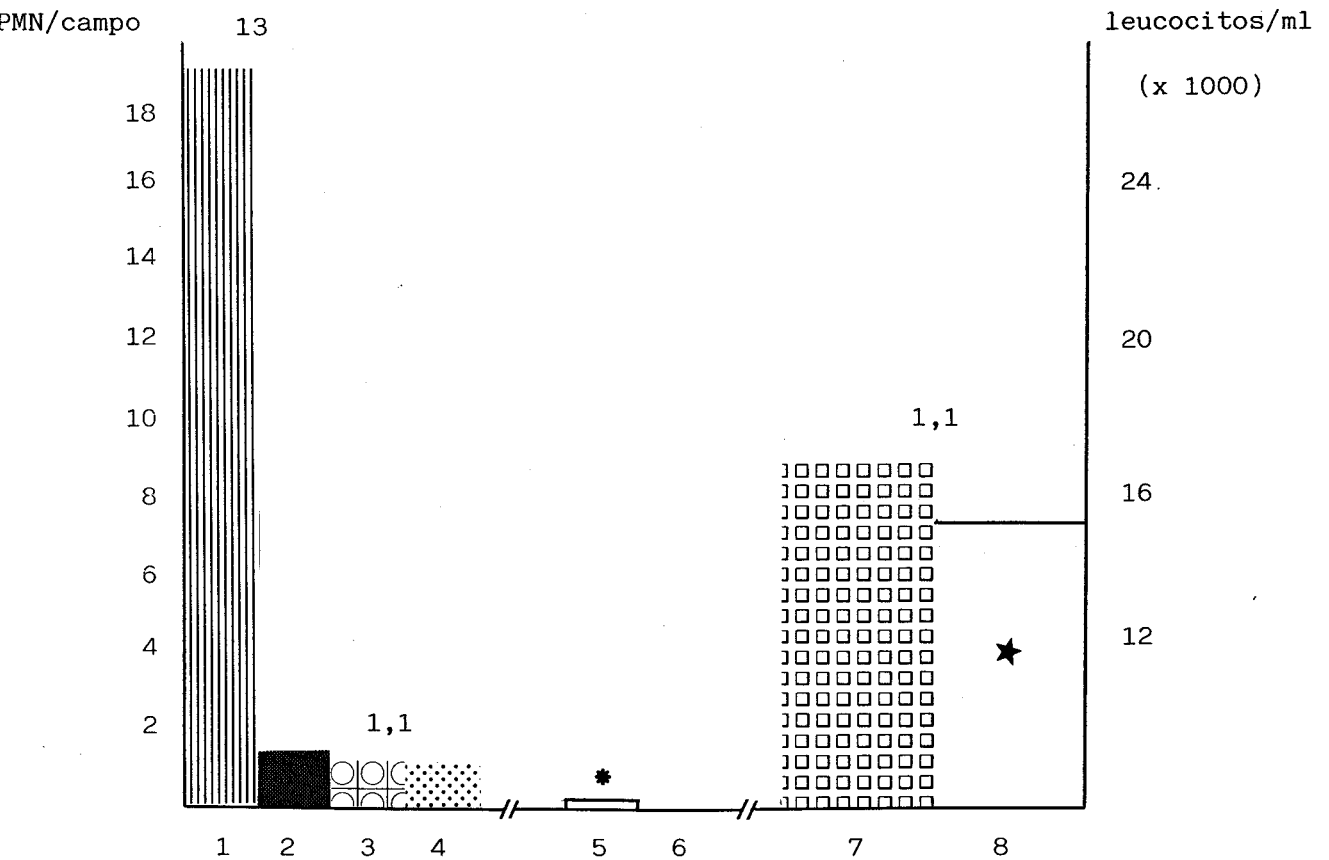
MVS

Nº capas citotrofoblásticas

Nº capas deciduales

FIGURA 5.32

REPRESENTACION DE LOS INDICES LEUCOCITARIOS DEL GRUPO II



1: Placa corial

5: Membranas ovulares

2: Vellosidades subcoriales

6: Cordón umbilical

3: " intermedias

7: Recuento materno

4: " parabasales

8: Recuento fetal

En la FIGURA 5.33 se representan los índices de los parámetros morfológicos de este grupo. Se observa un marcado descenso en el cociente "nudos/MVS", en la zona parabasal, en relación a los dos primeros grupos. Igualmente, la relación entre las capas deciduales y citotrofoblásticas varía significativamente con respecto al grupo de control.

Los parámetros leucocitarios del grupo II se representan en la FIGURA 5.34. Se puede apreciar un aumento progresivo de los leucocitos en la placa corial, ascendiendo el índice respectivo a 22,2 (2220 veces superior al del grupo de control). Los restantes índices, incluidos los relativos al recuento sanguíneo, no presentan diferencias significativas.

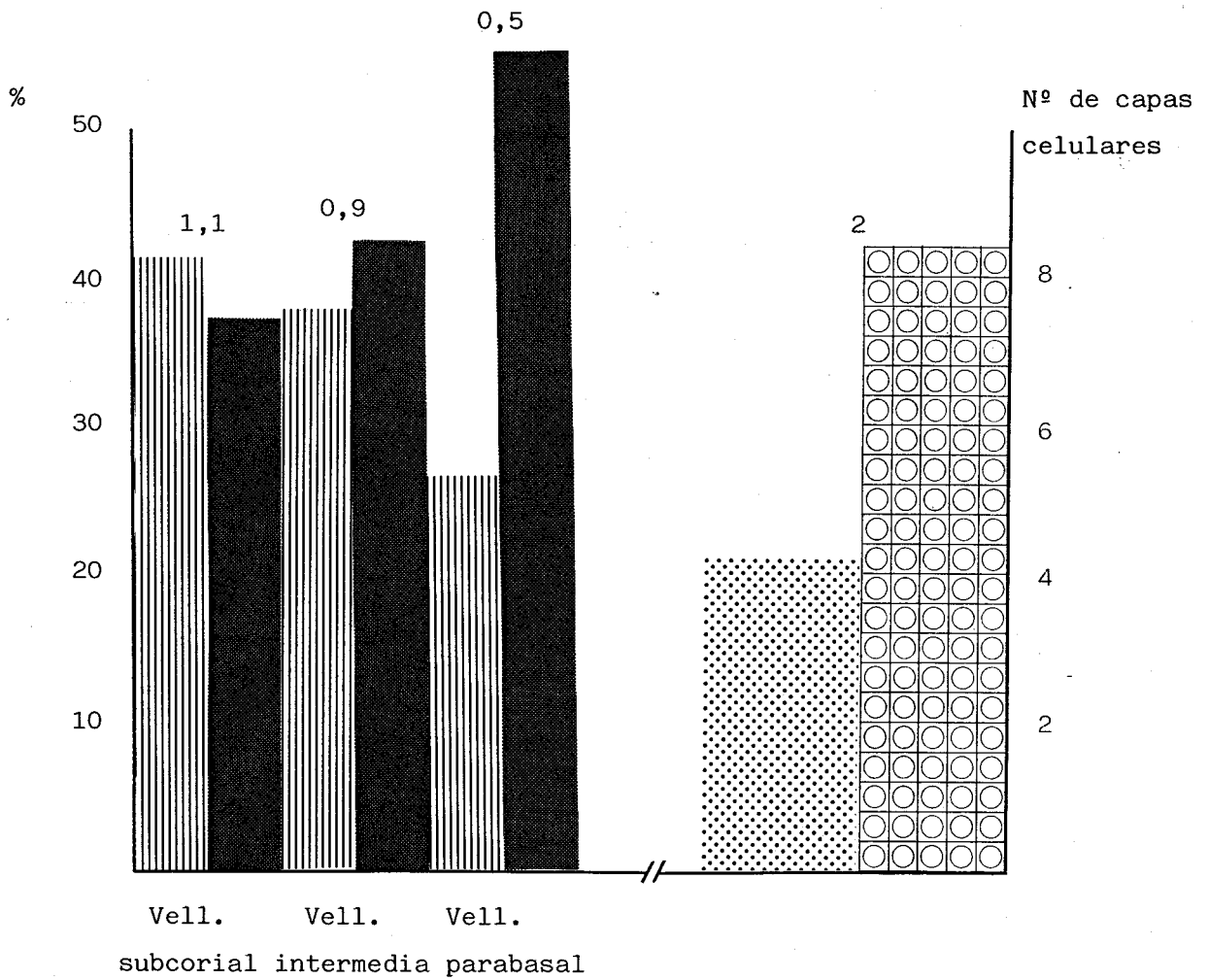
5.2.6.5 Grupo IV (fiebre materna)

Los índices morfológicos de este grupo se representan en la FIGURA 5.35. Se observan unos porcentajes sensiblemente disminuidos, tanto de nudos como de MVS, en todas las localizaciones, aunque los índices respectivos permanecen estables - 0,8 -. Al igual que en el grupo anterior, se mantiene el índice resultante de dividir el número de capas deciduales por el número de capas citotrofoblásticas (2,1).

En este grupo, llama la atención el enorme

FIGURA 5.33

REPRESENTACION DE LOS INDICES MORFOLOGICOS DEL GRUPO III



||||| Nudos

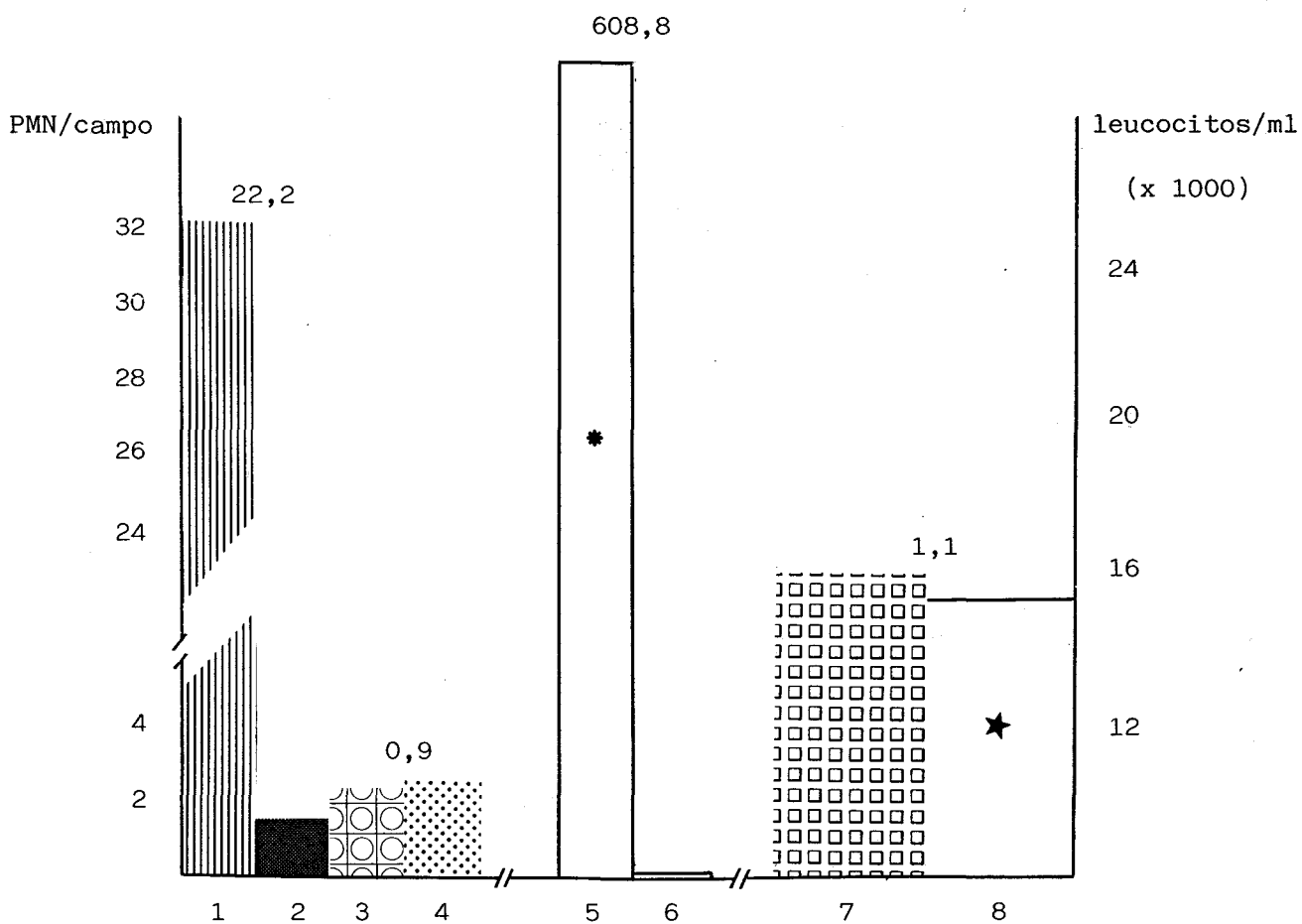
■ MVS

●●●●● Nº de capas citotrofoblásticas

○ ○ ○ Nº de capas deciduales

FIGURA 5. 34

REPRESENTACION DE LOS INDICES LEUCOCITARIOS DEL GRUPO III



1: Placa corial

5: Membranas ovulares

2: Vellosidades subcoriales

6: Cordón umbilical

3: " intermedias

7: Recuento materno

4: " parabasales

8: Recuento fetal

aumento de PMN en la placa corial (FIGURA 5.36), cuyo índice asciende a 77 (7.700 veces superior al del grupo de control). También se aprecian diferencias en el índice sanguíneo de leucocitos maternos y fetales (1,5 frente a 1,1 de los grupos anteriores).

5.2.6.6 Grupo V (meconio intraparto)

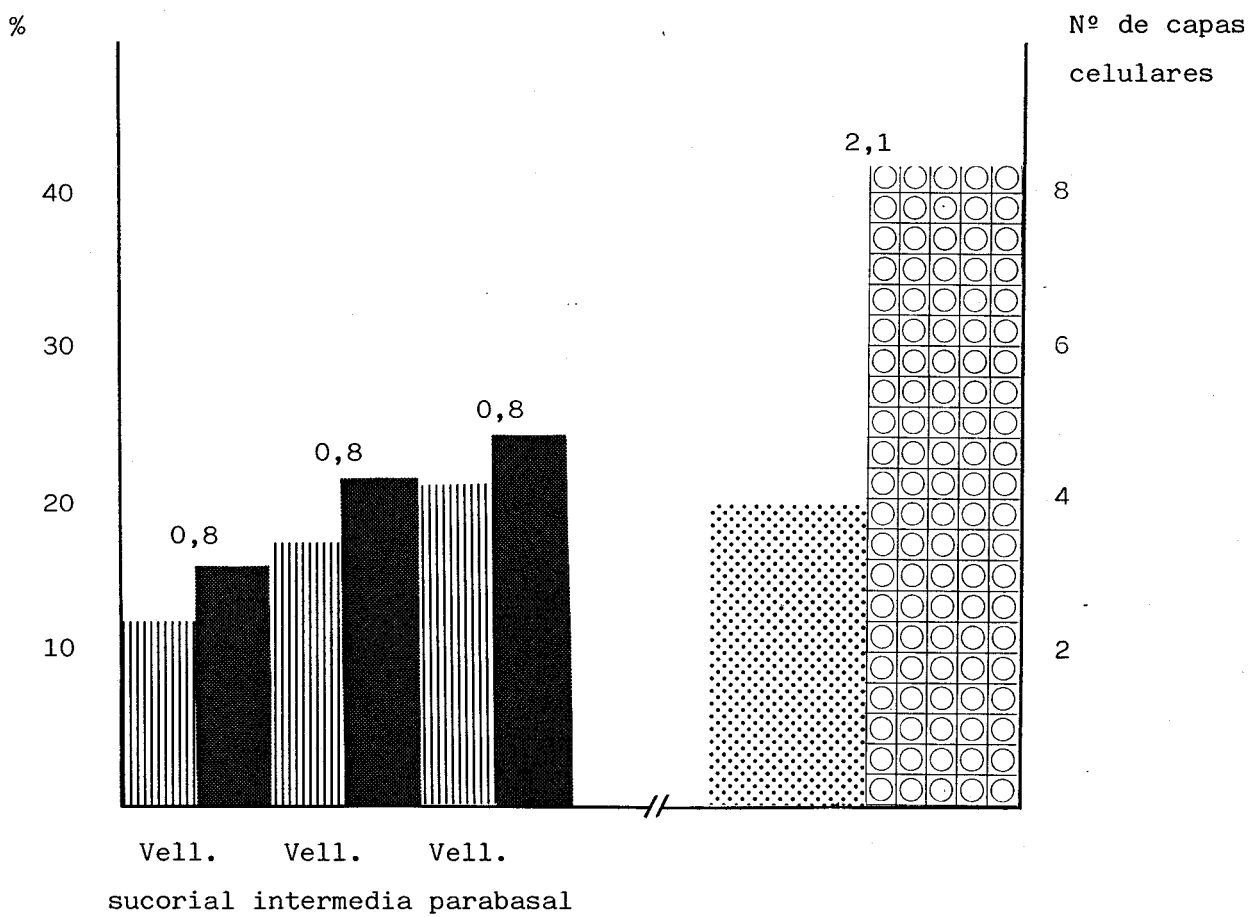
Al igual que en apartados anteriores, en las FIGURAS 5.37 y 5.38 se representan los parámetros morfológicos y el recuento leucocitario del grupo V, así como sus respectivos índices. En general, no se observan diferencias significativas con el grupo de control, excepto una inversión en el índice entre el número de PMN en la sangre materna y en la sangre fetal, debido a un aumento significativo de éstos últimos.

5.2.6.7 Análisis comparativo de los grupos de partos "a término" (0, I, II, III, IV y V)

En la TABLA 5.9 se exponen los índices de los diferentes parámetros morfológicos y de los recuentos leucocitarios. En primer lugar, se observa una ligera disminución del índice "nudos sincitiales/MVS", en todas las localizaciones placentarias, a medida que aumenta el periodo de tiempo transcurri-

FIGURA 5.35

REPRESENTACION DE LOS INDICES MORFOLOGICOS DEL GRUPO IV







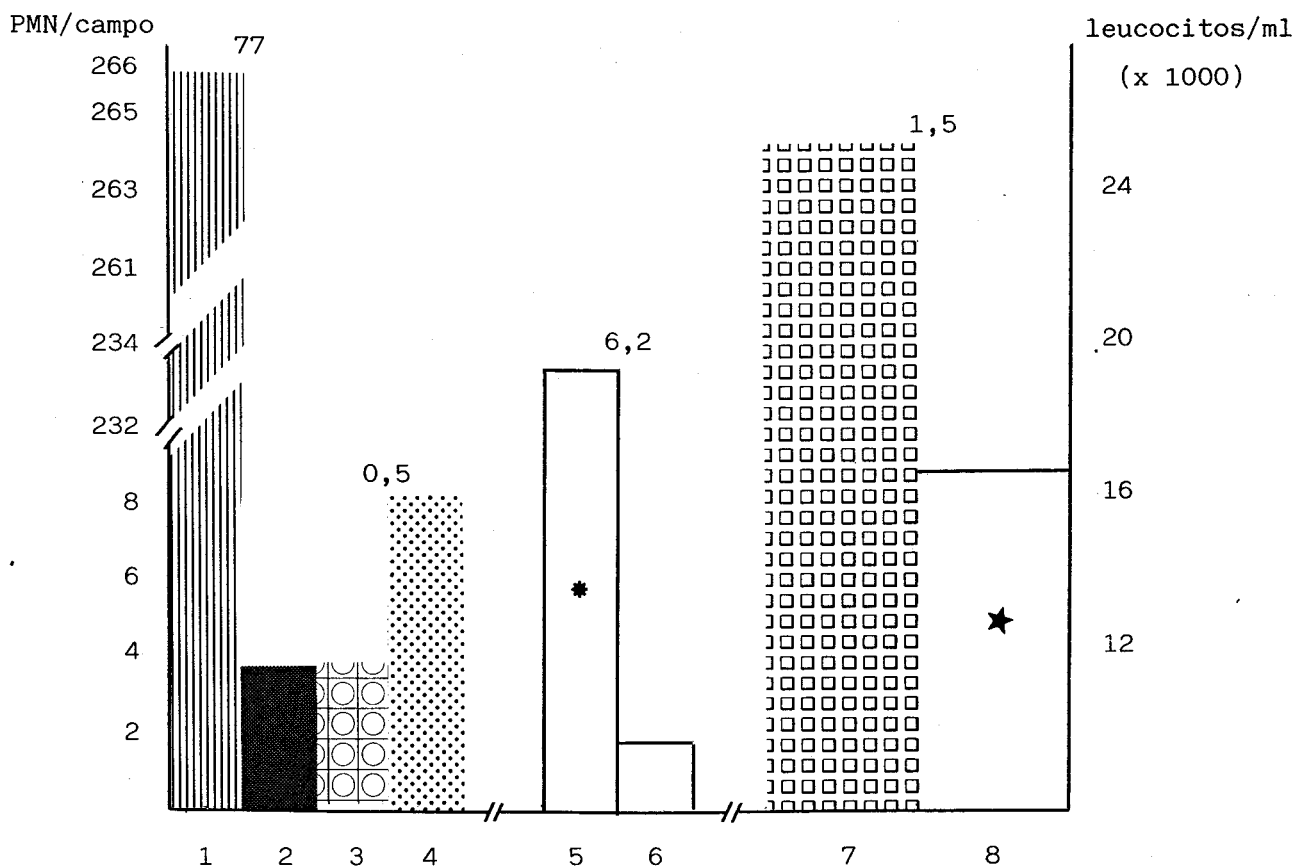
-  Nudos
-  MVS
-  Nº capas cito-trofoblásticas
-  Nº de capas deciduales

FIGURA 5.36

REPRESENTACION DE LOS INDICES LEUCOCITARIOS DEL GRUPO IV



1: Placa corial

5: Membranas ovulares

2: Vellosidades subcoriales

6: Cordón umbilical

3: " intermedias

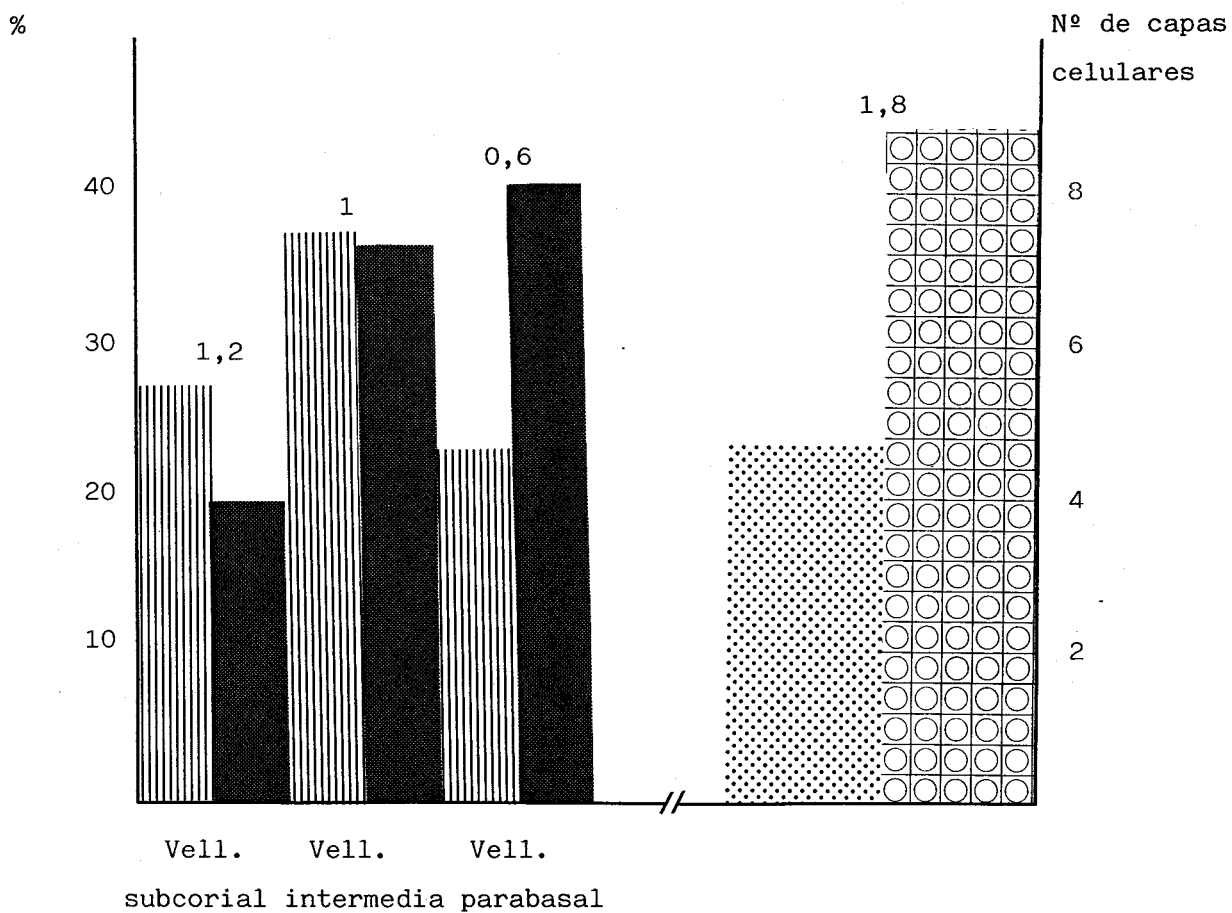
7: Recuento materno

4: " parabasales

8: Recuento fetal

FIGURA 5.37

REPRESENTACION DE LOS INDICES MORFOLOGICOS DEL GRUPO V



||||| Nudos

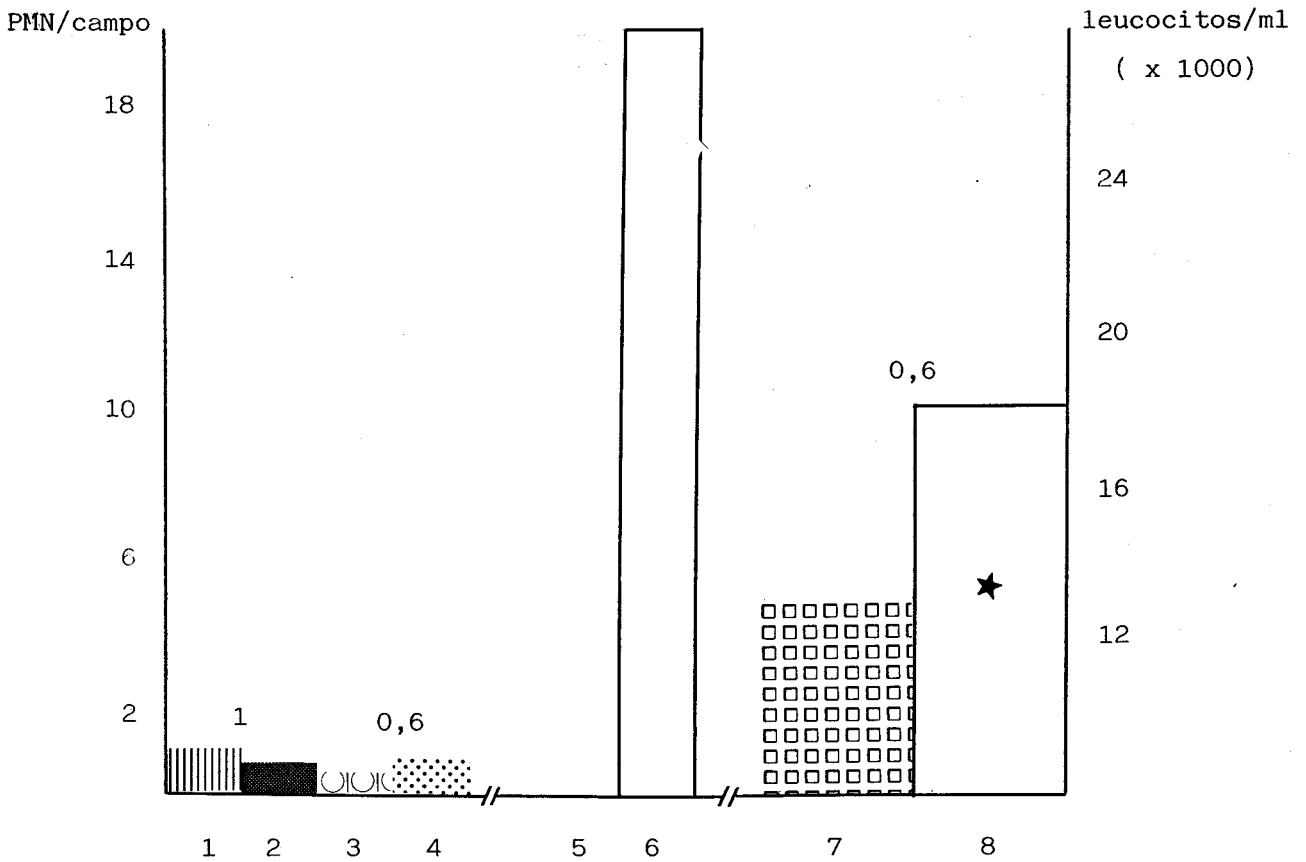
■ MVS

●●●● Nº de capas citotrofoblásticas

○ ○ ○ ○ Nº de capas deciduales

FIGURA 5.38

REPRESENTACION DE LOS INDICES LEUCOCITARIOS DEL GRUPO V



- | | |
|-----------------------------|-----------------------|
| 1: Placa corial | 5: Membranas ovulares |
| 2: Vellosidades subcoriales | 6: Cordón umbilical |
| 3: " intermedias | 7: Recuento materno |
| 4: " parabasales | 8: Recuento fetal |

do desde la rotura de las membranas ovulares hasta el momento |
del parto, llegando a los valores inferiores en el grupo de in- |
fecciones clínicas (grupo IV).

En segundo lugar, se aprecia que a medida |
que aumenta el tiempo de bolsa rota se incrementa paralelamente
el cociente entre el número de capas de células deciduales y el
de células citotrofoblásticas.

Respecto a los índices leucocitarios, llama |
la atención el aumento que experimenta el índice de PMN placa co
rial/ zona subcorial; a medida que se incrementa el periodo de |
tiempo transcurrido entre la rotura de las membranas y el parto.
Dicho índice no evoluciona de forma paralela en los parto con me
conio.

Finalmente, el índice de recuento leucocita-
rio sangre materna / sangre fetal permanece constante, a medida |
que aumenta el tiempo de rotura de la bolsa, incrementándose tan
sólo en las corioamnionitis clínicas.

5.2.6.8 Grupo VI (pretérminos con bolsa inte gra)

En la FIGURA 5.39 se representan los paráme-

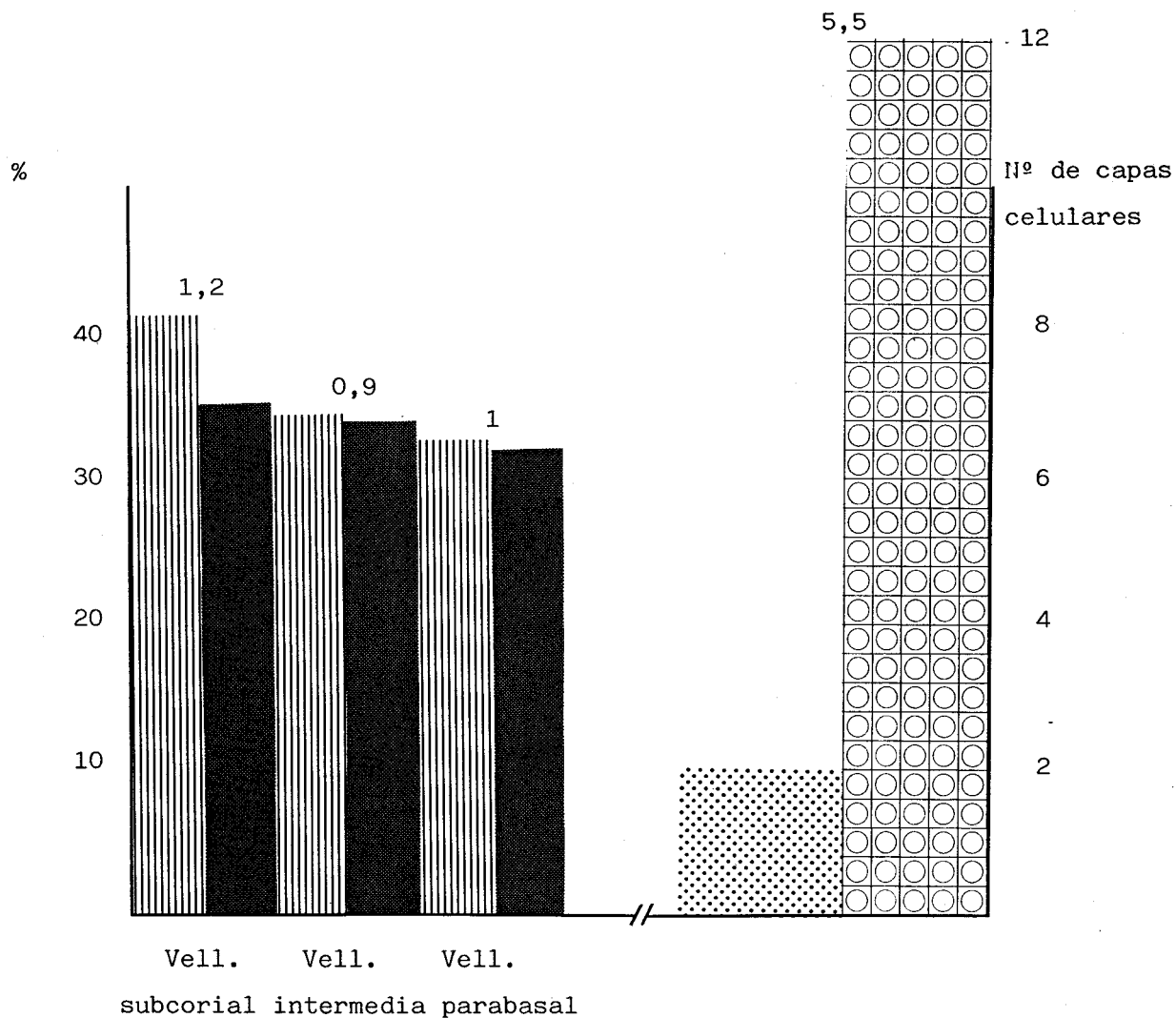
TABLA 5.9

INDICES DE LOS GRUPOS DE PARTOS "A TERMINO"

GRUPO DE ESTUDIO	NUDOS			DECIDUA	PMN P.corial	PMN z.intermedia	RECUESTO MATERNO
	MVS			CITOTROFOBLASTO	PMN Z.subcorial	PMN z.parabasal	RECUESTO FETAL
	Subcorial	Intermedia	Parabasal				
CONTROL	1,6	1	0,8	1,1	0,01	1,17	1,1
I	0,8	1,2	1	1	0,15	0,7	1,1
II	1,4	0,7	0,7	2	13	1,1	1,1
III	1,1	0,9	0,5	2	22,2	0,9	1,1
IV	0,8	0,8	0,8	2,1	77	0,5	1,5
V	1,4	1	0,6	1,8	1	0,6	0,6

FIGURA 5.39

REPRESENTACION DE LOS INDICES MORFOLOGICOS DEL GRUPO VI



||||| Nudos

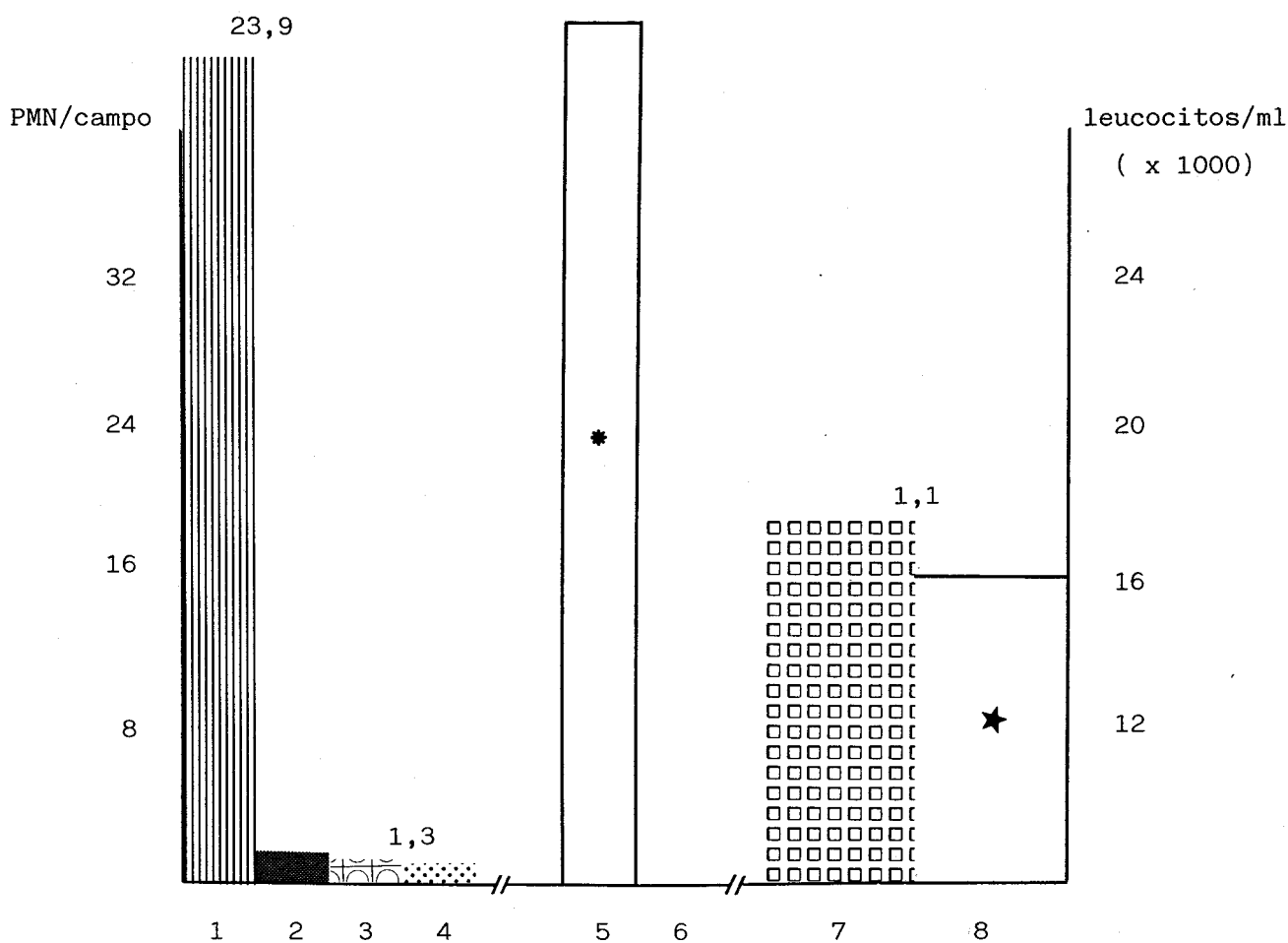
■ MVS

●●●●● Nº de capas citotrofoblásticas

○ ○ ○ Nº de capas deciduales

FIGURA 5.40

REPRESENTACION DE LOS INDICES LEUCOCITARIOS DEL GRUPO VI



1: Placa corial

5: Membranas ovulares

2: Vellosidades subcoriales

6: Cordón umbilical

3: " intermedias

7: Recuento materno

4: " parabasales

8: Recuento fetal

tros morfológicos del grupo VI. Puede observarse como los nudos sincitiales disminuyen a medida que la zona estudiada se aproxima a la placa basal y como las MVS permanecen estables, por lo que los índices van siendo progresivamente inferiores.

El cociente entre el número de capas deciduales y citotrofoblásticas es, en este caso, de 5,5.

Los índices leucocitarios se representan en la FIGURA 5.40. El índice "PMN de la placa corial/ PMN de la zona subcorial" es de 23.9 , mientras que, el cociente leucocitario sanguíneo es de 1,1.

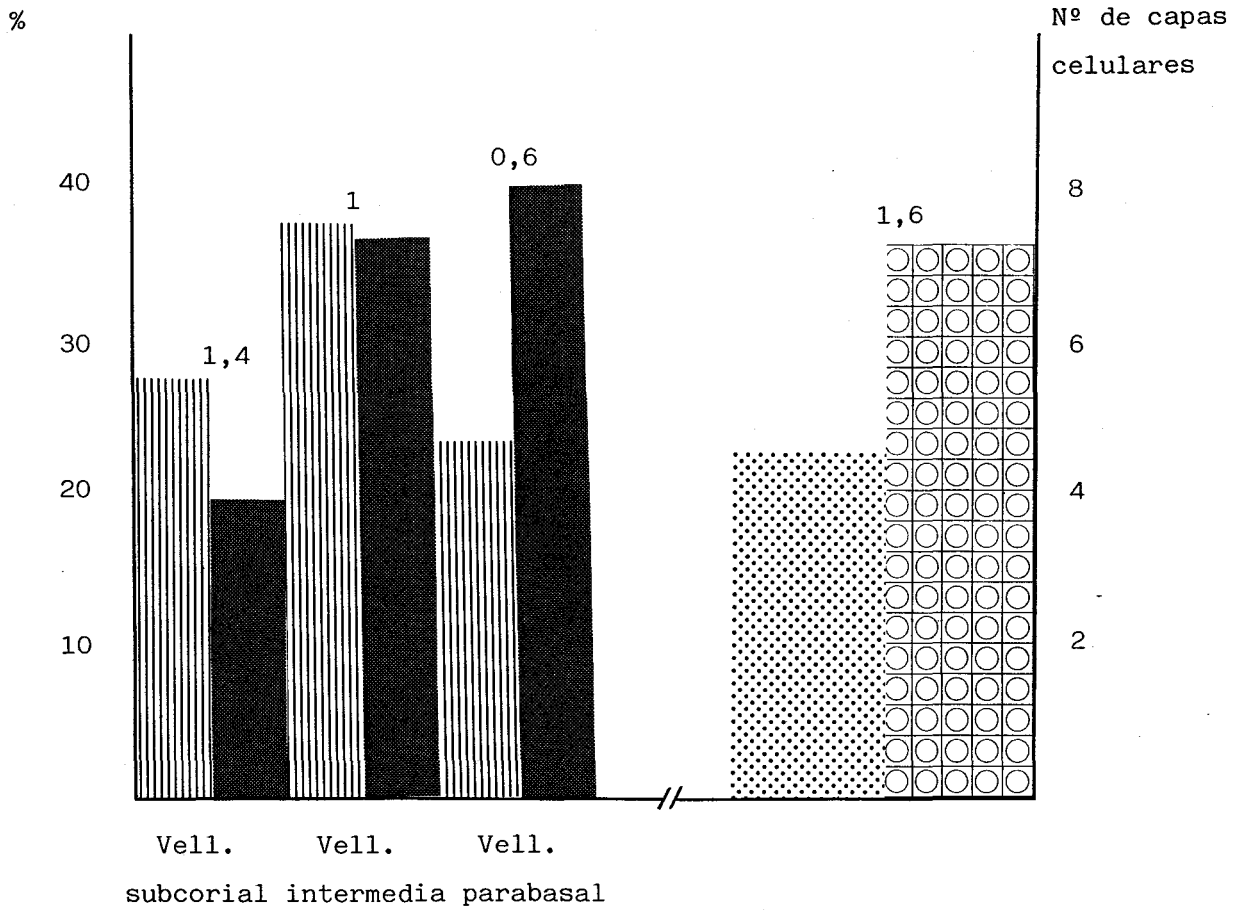
5.2.6.9 Grupo VII (pretérminos con bolsa rota)

Los parámetros morfológicos se representan en la FIGURA 5.41. Se observa como los nudos sincitiales permanecen estables mientras que las MVS aumentan a medida que las vellosidades se acercan a la placa basal, por lo que los índices correspondientes van disminuyendo progresivamente. El índice entre el número de capas deciduales y citotrofoblásticas es, en este caso, de 1,4.

En la FIGURA 5.42 se representan los índices

FIGURA 5.41

REPRESENTACION DE LOS INDICES MORFOLOGICOS DEL GRUPO VII



||||| Nudos

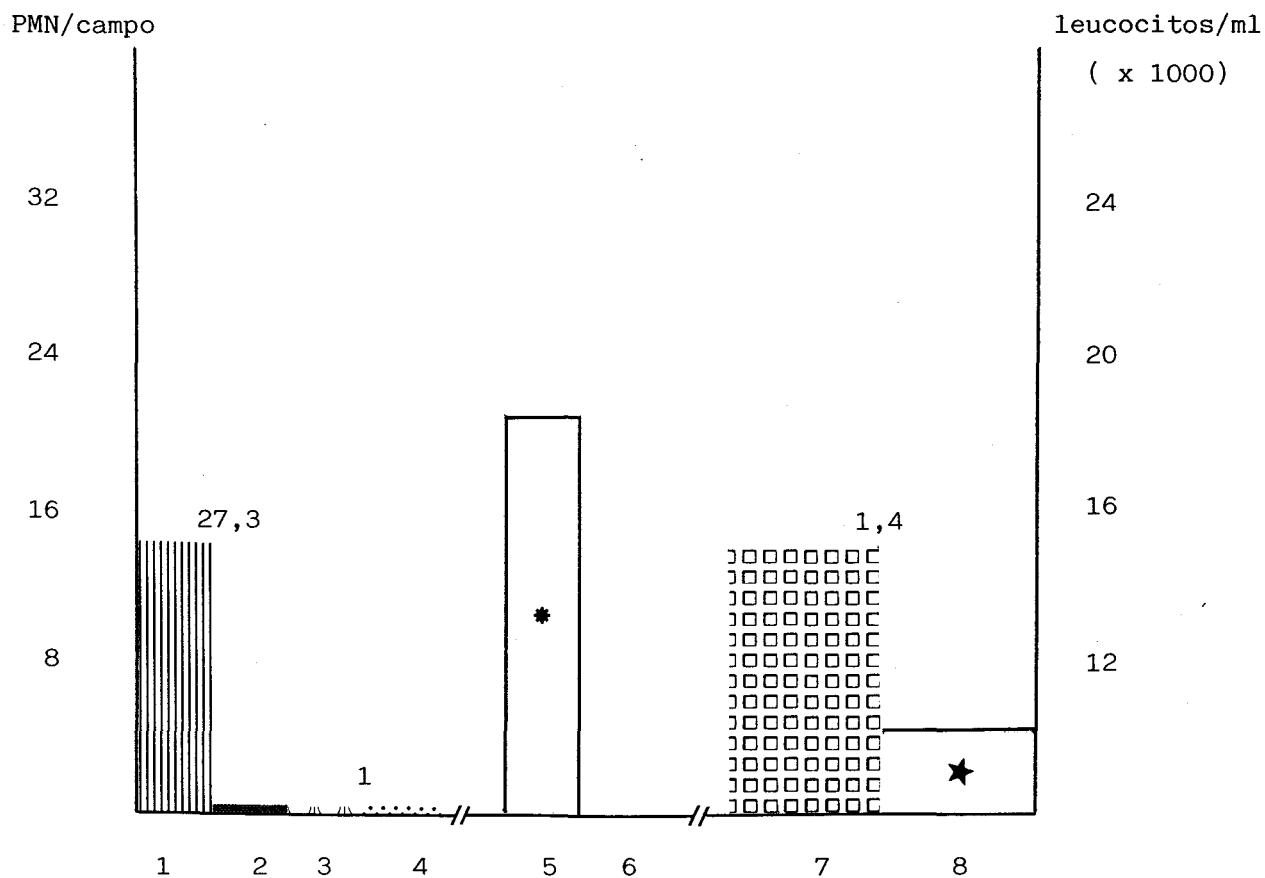
■ MVS

●●●● Nº de capas citotrofoblásticas

○ ○ ○ ○ Nº de capas deciduales

FIGURA 5.42

REPRESENTACION DE LOS INDICES LEUCOCITARIOS DEL GRUPO VII



1: Placa corial

5: Membranas ovulares

2: Vellosidades subcoriales

6: Cordón umbilical

3: " intermedias

7: Recuento materno

4: " parabasales

8: Recuento fetal

leucocitario. El cociente entre los PMN de la placa corial y de la zona subcorial es de 27,3 mientras que el índice leucocitario sanguíneo es de 1,4.

5.2.6.10 Análisis comparativo de los grupos de gestaciones pretérmino (VI y VII)

Al relacionar ambos grupos no se aprecian diferencias significativas en los índices morfológicos, excepto en el cociente decidua/citotrofoblasto, que es muy superior en el grupo VI. En los índices leucocitarios no existen diferencias estadísticas (TABLA 5.10).

Si se compara el grupo de pretérminos con la bolsa íntegra y el grupo de control, se aprecian diferencias significativas en el cociente decidua/citotrofoblasto y en el cociente PMN placa corial/ PMN zona subcorial. En ambos casos es muy superior en el grupo pretérmino.

Finalmente, si relacionamos el grupo de pretérminos con bolsa rota, con los distintos grupos a término con bolsa rota, podemos apreciar que sus índices morfológicos son similares, exceptuando al grupo IV. Respecto a los parámetros leucocitarios, sus índices son semejantes a los del grupo a término



TABLA 5.10

INDICES DE LOS GRUPOS DE PARTOS PRETERMINOS

GRUPO DE ESTUDIO	NUDOS			DECIDUA	PMN P. corial	PMN Z.intermedia	RECUENTO MAT
	MVS	Subcorial	Intermedia	CITOTROFOBLASTO	PMN Z.subcorial	PMN Z. parabasal	RECUENTO FET
VI	1,2	0,9	1	5,5	23,9	1,3	1,1
VII	1,4	1	0,6	1,6	27,3	1	1,4

con bolsa rota de más de 24 horas.

5.3 CORIOAMNIONITIS HISTOLOGICAS

Atendiendo a los criterios establecidos por BLANC (24), del total de las placentas estudiadas, 16 se ajustaban al diagnóstico de corioamnionitis histológicas.

5.3.1 CLASIFICACION DE LAS CORIOAMNIONITIS: GRADOS HISTOLOGICOS

Se han clasificado las corioamnionitis histológicas según los patrones establecidos por NAEYE (133), en tres grados. En la TABLA 5.11 puede observarse como no había ninguna corioamnionitis histológica de grado I, tres eran de grado II y catorce lo fueron de grado III.

Cuando se comparan los resultados obtenidos, según la tipificación histológica con la clasificación clínica, se aprecia que no hubo ninguna corioamnionitis histológica en el grupo de control ni en el grupo I. En cambio, en el grupo de fiebre materna (IV), todos los casos presentaron una corioamnionitis histológica.

TABLA 5.11

CLASIFICACION SEGUN LOS GRADOS DE LAS CORIOAMNIONITIS HISTOLOGICAS

	CONTROL		I		II		III*		IV*		V		VI		VII		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%		
Grado 1	0	0	0	0	0	0	1	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Grado 2	0	0	0	0	0	0	2	20	1	20	0	0	0	0	0	0	0	3
Grado 3	0	0	0	0	1	20	3	30	4	80	1	20	1	20	2	40	0	12
TOTAL	0	0	0	0	1	20	6	60	5	100	1	20	1	20	2	40	0	16

* $p < 0,05$

Al realizar el estudio estadístico, se apreciaban diferencias significativas entre el grupo de control y el grupo I, con todos los demás, y, particularmente, con los grupos III y IV.

5.3.2 CLASIFICACION DE LAS CORIOAMNIONITIS : ESTADIOS HISTOLOGICOS

Empleando los criterios de NAEYE (133) se clasificaron las corioamnionitis histológicas en tres estadios . En la TABLA 5.12 puede apreciarse como tres de ellas se hallaban en un estadio I, dos en un estadio II y las once restantes se encontraban en un estadio III.

Al igual que en el apartado anterior, se obtuvieron diferencias, estadísticamente significativas, entre los grupo de control y I, y los restantes, especialmente, los grupos III y IV.

5.4 RELACION ENTRE LA CORIOAMNIONITIS HISTOLOGICA Y DIFERENTES PARAMETROS CLINICOS

Finalmente, hemos procedido a estudiar la relación existente entre aquellos casos catalogados de corioamnio-

TABLA 5.12

CLASIFICACION SEGUN LOS ESTADIOS DE LAS CORIOAMNIONITIS HISTOLOGICAS

	CONTROL		I		II		III*		IV*		V		VI		VII		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%		
Estadio I	0	0	0	0	0	0	1	10	2	40	0	0	0	0	0	0	0	3
Estadio II	0	0	0	0	1	20	0	0	1	20	0	0	0	0	0	0	0	2
Estadio III	0	0	0	0	0	0	5	50	2	40	1	20	1	20	2	40	40	11
TOTAL	0	0	0	0	1	20	6	60	5	100	1	20	1	20	2	40	40	16

* p<0,05

nitis histológicas con distintos parámetros clínicos, tanto maternos como fetales, de forma comparativa con el resto de los casos estudiados. Teniendo en cuenta que el análisis se ha efectuado , relacionando pares de variables, ha sido preciso emplear como test de significatividad, en este caso, el de la "chi-cuadrado".

5.4.1 EDAD Y PARIDAD

No se ha podido establecer ningún tipo de relación significativa entre la presencia de corioamnionitis histológica y la edad y/o paridad materna (TABLA 5.13). No obstante , el 75 % de las pacientes con corioamnionitis histológica tenían | menos de 30 años y el 50 % eran primigrávidas.

5.4.2 EDAD GESTACIONAL

La frecuencia de corioamnionitis histológica fue similar en los embarazos pretérminos (36,36 %) y en las gestaciones a término (30,76 %), no existiendo por tanto ninguna relación entre el cuadro histológico y la edad de gestación (TABLA 5.13).

5.4.3 EMPLEO DE ANTIBIOTICOS, BETA-MIMETICOS Y CORTICOIDES

Al analizar la incidencia de corioamnionitis histológica en aquellos casos que fueron tratados o no con antibióticos, corticoides y/o beta-miméticos, no se ha podido establecer ninguna relación estadísticamente significativa (TABLA 5.13).

5.4.4 INDUCCION DEL PARTO

No existe ninguna relación entre las pacientes que presentaron o no una corioamnionitis histológica y la inducción del parto. No obstante, el 42,9 % de los casos que fueron inducidos presentaron dicho proceso (3 de 7) frente al 30,3% de las mujeres no inducidas (13 de 43)(TABLA 5.13).

5.4.5 FIEBRE MATERNA ANTEPARTO

El 100 % de las mujeres que presentaron fiebre anteparto desarrollaron una corioamnionitis histológica frente al 27,5 % de las mujeres apiréticas. En este caso, las diferencias fueron significativas($p < 0,05$)(TABLA 5.13).

5.4.6 DURACION DEL PARTO

Ha podido establecerse una relación significativa entre los partos prolongados (más de 20 horas) y la pre

sencia de corioamnionitis histológica. El 85,7 % de las mujeres con una duración del parto superior a dicho periodo desarrollaron una corioamnionitis histológica frente 23,3 % de las pacientes cuyo parto duró menos de 20 horas (TABLA 5.13).

5.4.7 PRESENCIA DE LIQUIDO AMNIOTICO MECONIAL

El 42,9 % de las pacientes con líquido amniótico meconial presentaron un cuadro de corioamnionitis histológica concomitante (6 de 14), frente al 27,7 % de las que no lo presentaron. Las diferencias no fueron estadísticamente significativas (TABLA 5. 13).

5.4.8 FIEBRE MATERNA INTRAPARTO

El 100 % de las mujeres con fiebre intraparto desarrolló una corioamnionitis histológica (7 de 7). En cambio, sólo el 20,9% de las pacientes apiréticas presentó el mismo cuadro (9 de 43). Las diferencias entre ambos son significativas. ($p < 0,05$)(TABLA 5. 13).

5.4.9 DURACION DEL PERIODO DE ALUMBRAMIENTO Y MECANISMO DE DESPRENDIMIENTO PLACENTARIO

La duración media del periodo del alumbramiento fue de 6,3 minutos. No han existido diferencias significativas entre la presencia o no de corioamnionitis histológica y la duración de este periodo del parto. Tampoco han podido evidenciarse diferencias significativas entre el mecanismo del alumbramiento (manual, Schultze o Duncan) y la presencia de corioamnionitis histológica (TABLA 5.13).

5.4.10 SEXO Y PESO DEL RECIEN NACIDO

No hemos podido establecer ninguna relación entre el sexo y el peso fetal con la presencia o ausencia de corioamnionitis histológica (TABLA 5.13).

5.4.11 TEMPERATURA DEL NEONATO EN EL MOMENTO DEL NACIMIENTO

Todos los recién nacidos con temperatura rectal igual o superior a 37,5°C provenían de embarazos con diagnóstico de corioamnionitis histológica (5 de 5, 100 %), frente al 24,4 % en los casos de neonatos con temperaturas inferiores a 37,5°C (11 de 45). Estos cinco recién nacidos pertenecían 1 al grupo I, 2 al grupo III y 2 al grupo IV. Las diferencias son estadísticamente significativas.

TABLA 5.13

RELACION EXISTENTE ENTRE LA CORIOAMNIONITIS HISTOLOGICA Y LOS DIFERENTES PARAMETROS CLINICOS

PARAMETRO CLINICO	CORIOAMNIONITIS HISTOLOGICA	PLACENTA NORMAL	p
EDAD ≥ 30 años	4	10	N.S.
< 30 años	12	24	
PARIDAD I p	8	13	N.S.
II ó más	8	21	
EDAD GES- < 37 semanas	4	6	N.S.
TACIONAL ≥ 37 semanas	12	28	
USO DE ANTIBIOTICOS SI	12	11	N.S.
NO	4	23	
CORTICOIDES SI	2	3	N.S.
NO	14	31	
BETA-MIMETICOS SI	1	2	N.S.
NO	15	32	
INDUCCION SI	3	4	N.S.
NO	13	30	

TABLA 5.13 (Cont.)

PARAMETRO CLINICO		CORIOAMNIONITIS HISTOLOGICA	PLACENTA NORMAL	p
FIEBRE ANTE- PARTO	SI	3	0	$< 0,05$
	NO	13	34	
DURACION DEL PARTO	< 20 horas	10	33	$< 0,05$
	≥ 20 horas	6	1	
MECONIO	SI	6	8	N.S.
	NO	10	26	
FIEBRE INTRA- PARTO	SI	7	0	$< 0,05$
	NO	9	34	
DURACION DEL ALUMBRAMIENTO	$< 6,3'$	12	27	N.S.
	$\geq 6,3'$	4	7	
SEXO	V	11	19	N.S.
	H	5	15	
PESO	< 3.000 g	5	13	N.S.
	≥ 3.000 g	11	22	
TEMPERATURA FETAL	$< 37,5^{\circ}\text{C}$	11	34	$< 0,05$
	$\geq 37,5^{\circ}\text{C}$	5	0	

DISCUSIÓN

6.1 METODO

Nuestra primera hipótesis de trabajo planteaba que la tinción con DAB-Cl₂Co podría presentar grandes ventajas en el estudio leucocitario de los anejos fetales, en relación a la técnica de la Hematoxilina-eosina. Una vez realizadas las experiencias metodológicas preliminares y el estudio clínico-patológico, propiamente dicho, hemos encontrado ventajas e inconvenientes de la técnica de la DAB-Cl₂Co aplicada al estudio de la placenta, de las membranas ovulares y del cordón umbilical, incluidos en parafina.

* Una de las principales ventajas de la técnica de la DAB-Cl₂Co es su especificidad en relación a los leucocitos y, fundamentalmente, hacia su núcleo. Como hemos tenido ocasión de comprobar en las experiencias preliminares, la digestión con Desoxirribonucleasa y Ribonucleasa hacía desaparecer la tinción nuclear en todas las estirpes celulares existentes en la placenta, excepto en los leucocitos. De ello, deducimos que se produce una fuerte unión entre algunos de los componentes de la tinción -posiblemente, el Cobalto- con algunos de los integrantes del núcleo, distintos de los ácidos nucleicos -como podrían ser las protaminas o las histonas.

* Otra de las posibles ventajas de la técnica

ca de la DAB-Cl₂Co es que facilita enormemente el recuento leucocitario, especialmente, cuando se varía el pH de la reacción . | Así pues, al disminuir el pH del tampón TRIS-ClH 0,2 M hasta 7 - 7,5 se logra una tinción débil de todas las estructuras placentarias, que contrasta con la intensa tinción conseguida en los núcleos leucocitarios. Este hecho simplifica de forma muy importante el recuento leucocitario, si bien hemos de decir que no hemos encontrado diferencias cuantitativas entre el recuento realizado con la técnica de la DAB-Cl₂Co y el efectuado con la técnica de la Hematoxilina-Eosina. La diferencia se establecería únicamente desde el punto de vista cualitativo.

La gran especificidad de la técnica de la | DAB-Cl₂Co sobre el núcleo de los leucocitos, podría abrir nuevas líneas de investigación, pudiendo obtener una mayor aplicación y utilidad en el estudio de la transferencia leucocitaria a través de la placenta. Dicho problema ha sido ampliamente debatido en | los últimos años (47). Los primeros trabajos realizados por TUFFREY y cols. (190 , 191), en animales de experimentación, propugnaron la existencia de una transferencia de leucocitos maternos | a través de la barrera placentaria de los ratones. Sin embargo , en estudios posteriores, BILLINGTON y cols.(22), SELLER y cols (177) y SCHROEDER y cols. (175) no pudieron confirmar estos resultados. SCHROEDER y cols. (175) explicaron los resultados positivos de TUFFREY por el paso, no de leucocitos maternos, sino |

de los marcadores radiactivos, los cuales se acoplarían a las células fetales.

ADINOLFI (2), en una revisión exhaustiva sobre el tema, concluyó que, en la placenta del ratón, la transferencia de los leucocitos, o no ocurre, o bien, es extremadamente rara. También expresa la posibilidad de que algunas células fetales atraviesen la placenta, pero no puedan dividirse después de ser estimuladas, por lo que no serían detectadas en metafase.

En humanos, los estudios sobre la transferencia de los leucocitos a través de la placenta pueden dividirse en dos grandes grupos. Los primeros trabajos emplearon como método de estudio, las diferencias morfológicas entre los leucocitos maternos y los fetales, o bien marcaron a los leucocitos con timidina tritiada (41). El segundo grupo incluye aquellos trabajos que emplearon los marcadores cromosómicos. Dentro de este grupo se hallan los estudios de WALKNOWSKA (195), ZIMMERMANN(201 y SCHROEDER (174), que empleando la técnica de la quinacrina (145) para la puesta en evidencia del cromosoma Y de los leucocitos fetales en la sangre periférica de mujeres gestantes, detectaron un 1 % de células "cromosoma Y" positivas. Sin embargo, no se ha podido relacionar significativamente el hallazgo de estas células con el sexo del feto. WALKNOWSKA (195) sugiere que este hallazgo podría explicarse por la existencia en sangre peri

férica materna de células de fetos varones de embarazos anteriores. También podría relacionarse con la aparición de zonas excepcionalmente brillantes en los cromosomas maternos.

OLDING (137) estudió la transferencia en sentido contrario, detectando en sangre del cordón umbilical, la existencia de algunos linfocitos maternos. No obstante, este autor (137) concluye que o bien no existe un paso transplacentario de estas células, o bien son rápidamente destruidas en la sangre fetal.

Los trabajos más recientes de HERZEMBERG y cols. (84) utilizaron para la localización de los leucocitos fetales en la sangre materna, anticuerpos anti-HLA paternos, ausentes en la madre. Para ello, han empleado la técnica denominada FACS (Marcadores Celulares Activados con Fluoresceína) y su posterior tinción con quinacrina. Sus resultados positivos no demuestran, según ADINOLFI (2), que estas células sean de origen fetal, e incluso, que sean leucocitos.

Los datos aportados hasta el momento no son, en absoluto, concluyentes, por lo que pensamos que la técnica de la DAB-Cl₂Co, asociada a algún marcador inmunológico, como los anticuerpos anti-HLA paternos, y su posterior tinción con quinacrina, podría ser de alto rendimiento en el planteamiento, el es

tudio y la posible resolución de este importante problema.

Finalmente, hemos de dejar constancia de algunos inconvenientes de la técnica de la DAB-Cl₂Co, en relación a la de la Hematoxilina-Eosina. El más importante es su tiempo total de realización -aproximadamente, 150 minutos, frente a los 60 minutos de la Hematoxilina-Eosina-. Este inconveniente se podría obviar realizando los cortes de la placenta mediante congelación en nitrógeno líquido, método propuesto para la Hematoxilina-Eosina por PHILLIPPE (148), en los casos de posibles corioamionitis. Con esta variación se disminuye a la mitad el tiempo total de tinción de los cortes histológicos.

El otro problema que se plantea con esta técnica es el de la manipulación de los reactivos, ya que la Diaminobenidina podría ser un agente carcinogénico. Este inconveniente podría soslayarse utilizando el aislamiento indispensable en todas las manipulaciones de los reactivos del laboratorio.

6.2 RESULTADOS

6.2.1 HALLAZGOS HISTO-PATOLOGICOS

6.2.1.1 Estudio morfológico de las placentas

* Nudos sincitiales

El porcentaje de nudos sincitiales obtenido en el conjunto de todas las placentas es aproximadamente del 30% en las vellosidades subcoriales e intermedias, y algo menor -27% - en las vellosidades parabasales. Estas cifras son elevadas en relación a las publicadas por FOX (58), cuyos valores oscilan entre el 11 y el 30 %. Según este autor (58), tasas superiores al 30 % pueden considerarse patológicas y se encuentran en placentas de diabéticas, embarazos prolongados, preeclampsias y abortos recientes. En nuestro estudio, no obstante, algunas cifras llegaron al 41 % de nudos sincitiales y no estaban relacionadas con ninguno de estos procesos patológicos.

Analizando los resultados obtenidos en los diferentes grupos de estudio, se puede observar que existe una importante disminución de los nudos sincitiales en los grupos VII (partos pretérminos con RPM) y IV (fiebre materna). En el primer caso, es lógico pensar que existan menos nudos ya que el embarazo está menos avanzado; sin embargo, la disminución en el grupo de corioamnionitis sintomática (grupo IV) no la hemos podido explicar mediante la bibliografía consultada, ya que este hecho , estadísticamente significativo, no es reflejado por ningún otro autor.

Si analizamos la frecuencia de nudos de cada grupo y se relaciona con las zonas placentarias -subcorial, intermedia y parabasal (TABLA 5.1)-, podemos apreciar un aumento | significativo del número de nudos en los grupos 0, II, III y VI | en la zona subcorial respecto de la parabasal. Este hecho está | en contradicción con los hallazgos de otros autores, como FOX (60 MATHEWS y cols. (114)) y BACON y cols. (11), quienes no han encontrado ninguna diferencia entre el porcentaje de nudos existentes en las diferentes zonas placentarias. En cambio, se aprecia | como en los grupos VII y IV existe una disminución de los nudos | cercanos a la placa corial, en relación a las zonas intermedias | y parabasales.

Finalmente, puede deducirse de nuestros re- | sultados que, en los casos de fiebre materna y de parto pretérmino con RPM, está disminuido el número de nudos sincitiales, especialmente, en las vellosidades adyacentes a la placa corial.

* Membranas vásculo-sincitiales

El porcentaje de MVS hallado en la zona adyacente a la placa corial ha sido del 24 %, del 33 % en la zona intermedia y del 37 % en la parabasal. Estas cifras son bastante | más elevadas que las referidas por FOX (60). Dicho autor estata

blece para el embarazo a término, un límite superior del 20 %, |
hecho que no concuerda con nuestros resultados, que han llegado
a alcanzar hasta el 57 % en las zonas parabasales.

Sí coinciden nuestros hallazgos con los comu
nicados por MATHEWS y cols.(114) y FOX (60), en relación al |
superior porcentaje de MVS en la zona par basal, respecto de la |
zona subcorial. En este aspecto, podemos afirmar que el número |
de MVS aumenta significativamente, a medida que las vellosidades |
se encuentran más cerca de la cara materna de la placenta.

Si relacionamos el porcentaje de MVS en la |
zona subcorial con los diferentes grupos de estudio, se observa |
una disminución significativa en los grupos VII (pretérminos con
RPM), V (partos con meconio) y IV (fiebre materna). Estos descenu
sos también se aprecian en otras zonas placentarias pero no son |
estadísticamente significativos.

Por otra parte, hemos podido constatar un au
mento del número de MVS en todas las localizaciones, a medida |
que aumenta el tiempo de rotura de las membranas, en los partos |
a término, siempre que no presenten meconio intraparto o fiebre.

De estos hallazgos, se deduce que el porcenu
taje de MVS está disminuido, entre otros casos, en aquellos en |

los que hay corioamnionitis sintomática o meconio, así como en los pretérminos con RPM. En cambio, sucede lo contrario en los embarazos a término, a medida que aumenta el tiempo de bolsa rota.

* Necrosis fibrinoide

La proporción de vellosidades coriales con algún grado de necrosis fibrinoide oscila entre el 4 % y el 6 %. Estas cifras son más elevadas que las publicadas por FOX (60), quién ha comunicado un porcentaje inferior al 3 % en las gestaciones normales. Sin embargo, dichas tasas pueden ser similares ya que las cifras de este autor se refieren a vellosidades completamente obliteradas por la necrosis, mientras que en nuestro estudio hemos considerado también los casos con necrosis parciales.

El porcentaje de necrosis fibrinoide fue superior en las vellosidades subcoriales (6 %) que en las intermedias (5,6 %) y que en las vellosidades parabasales (4,3 %). Este hecho concuerda con los resultados de FOX (60) y MATHEWS y cols. (114), pero no con los estudios de TEASDALE (189) y BACON (11), quienes no encontraron ninguna diferencia entre las diferentes zonas de la placenta.

Cuando se analizan los resultados por grupos, se aprecia un aumento de la necrosis en el grupo VI (pretérminos con bolsa íntegra), especialmente, en las vellosidades subcoriales.

Llaman la atención las diferencias histopatológicas existentes entre los grupos VI y VII -ambos de pretérminos-, en los que las cifras de nudos sincitiales, de membranas vasculo-sincitiales y de necrosis fibrinoide son completamente diferentes. En nuestra opinión, ello podría deberse a la diferente etiopatogenia de los partos pretérminos, por rotura prematura de membranas o con las membranas ovulares íntegras.

Se deduce de nuestros resultados, que la necrosis fibrinoide es más frecuente a medida que las vellosidades se aproximan a la cara fetal de la placenta y que aumenta su frecuencia en los partos pretérminos con membranas íntegras.

* Número de vasos vellositarios

El número medio de vasos por vellosidad fue 3,8 en la zona subcorial, 3,9 en la zona intermedia y 4 en la parabasal. Estos datos coinciden plenamente con los aportados por FOX (60). Por otra parte, hemos podido observar como el número

de capilares fetales aumenta, a medida que las vellosidades se aproximan a la placa basal. Estos hallazgos se corresponden con los comunicados por TEASDALE (189) y BACON (11). Dichos datos, unidos al aumento del número de membranas vâsculo-sincitiales en las zonas parabasales, corroboran los hallazgos de BOYD (29), quién demostró que la porción central de la zona parabasal placentaria es la mejor preparada para realizar el intercambio feto materno.

Finalmente, cuando analizamos la distribución vascular por grupos, apreciamos un ligero aumento del número de vasos intravellositarios, a medida que se incrementa el tiempo de bolsa rota, así como una disminución, no significativa, en los grupos IV, VI y VII.

* Edema vellositario

El 23,6% de las placentas presentaron un edema intravellositario ligero. No existieron diferencias intragrupalas significativas, excepto en el grupo de pretérminos con RPM (grupo VII).

No hemos podido establecer ninguna relación entre la presencia de edema intravellositario con el tiempo de

bolsa rota ni con la aparición de corioamnionitis clínica. Por el contrario, la existencia de edema sí parece estar relacionada con la prematuridad -con o sin corioamnionitis-, más que con las infecciones amnióticas de los partos a término.

6.2.1.2 Estudio morfológico de las membranas ovulares

* Amnios. Madurez del epitelio amniótico

La estimación del tiempo de amenorrea mediante el estudio histológico de las células amnióticas es bastante precisa. No obstante, según nuestros hallazgos, hay que hacer varias observaciones: en primer lugar, dicha estimación es fiable cuando se cuantifica en el epitelio amniótico de la placa corial y no cuando se realiza a partir del epitelio amniótico de las membranas ovulares. Esto se debe a que la altura de las células es mayor en el primer caso.

En segundo lugar, es de destacar que la relación entre amenorrea verdadera y amenorrea estimada mediante el estudio del epitelio amniótico no presenta la misma precisión en los partos pretérminos y en los complicados con meconio que en los partos a término. En los partos con meconio hemos podido

constatar la existencia de un epitelio amniótico cuboideo, datos que se oponen a los comunicados por BOURNE (28), para quién el meconio facilitaría la aparición de células amnióticas altas y vacuoladas.

* Corion

- Número de vellosidades atróficas: el número de vellosidades atróficas estudiadas en las membranas ovulares ha sido uniforme, oscilando entre 0,2 (grupo II) y 1,1 (grupo I). No hemos podido establecer ninguna relación entre estas pequeñas variaciones y el tiempo de bolsa rota, la prematuridad, la aparición de meconio o la existencia de una corioamnionitis clínica.

No hemos encontrado en la bibliografía consultada ninguna referencia acerca de la tasa de vellosidades atróficas en relación con la aparición de infección amniótica, por lo que no podemos establecer una comparación de nuestros resultados.

- Número de capas citotrofoblásticas y deciduales: aunque no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas, sí se puede apreciar un aumento del número de es

tratos celulares de ambas capas, a medida que aumenta el tiempo transcurrido entre la rotura de las membranas ovulares y el momento del parto. Este aumento es más acusado en el número de capas deciduales.

Al igual que en el apartado anterior, tampoco hemos encontrado ninguna referencia que relacione los estratos celulares citotrofoblásticos y deciduales con la existencia de corioamnionitis. Sin embargo, PHILLIPPE (148) y FOX (60) han descrito que en las infecciones placentarias, las membranas aparecen, macroscópicamente, más gruesas que en los embarazos normales. Este hecho puede explicarse, a tenor de nuestros resultados, debido a un aumento de las capas deciduales desprendidas en el parto. La causa de este hecho no está demostrada pero podría deberse a que la infiltración leucocitaria de la capa basal de la decidua (33, 148, 36) induciría a un desprendimiento mayor de capas deciduales que en los partos normales, en los que no existe dicho proceso inflamatorio.

6.2.2 RECUENTO LEUCOCITARIO

En general, la mayoría de los autores (133, 60, 143, 148) definen la corioamnionitis como el acúmulo de leucocitos polimorfonucleares en las membranas y en la placa

corial o en la zona subcorial. Sin embargo, son muy pocos los autores que comunican las cifras exactas de leucocitos encontradas en los diferentes compartimentos placentarios. Uno de ellos es | BLANC (23), para quién existe una infección amniótica cuando | aparecen más de 4 células inflamatorias en la capa de fibrina | subcorial y quién clasifica las corioamnionitis en grados y es- tadíos. No obstante, tampoco hemos encontrado referencias de la tasa de leucocitos en otras localizaciones diferentes de la pla- ca corial, ni en gestantes normales ni en gestantes con corioam- nionitis clínicas o histológicas.

6.2.2.1 Recuento leucocitario en la placenta

* Polimorfonucleares en la placenta corial

En primer lugar, hay que destacar que el número de PMN en la placenta corial aumenta en relación directa con el | tiempo de bolsa rota, en los partos a término. Cuando han trans- currido 6 horas entre la rotura de las membranas y el parto, existen 10 veces más PMN que en el grupo de control. A partir de las 12 horas de bolsa rota, la cifra de leucocitos se multiplica por 1000. Nuestros resultados coinciden con los comunicados por BLANC y cols. (23), quienes han postulado que a partir de las 6 ho- ras de bolsa rota, el riesgo de infección ascendente se incrementa

ta de forma exponencial.

En segundo lugar, hemos podido observar que la diferencia entre las corioamnionitis puramente histológicas y las corioamnionitis clínicas (grupo IV) es puramente cuantitativa. Es decir, en las clínicas la tasa de PMN es 10 veces superior a la existente en las histológicas. La causa de esta diferencia puede ser debida a multitud de factores, desde mayor tiempo de rotura de las membranas (55), hasta una diferente respuesta del huésped a la infección ascendente (106 , 45).

En tercer lugar, se confirma la hipótesis que hemos ido observando en los apartados anteriores: que los partos pretérminos con bolsa rota difieren enormemente de aquellos que tienen las membranas íntegras. Así pues, en estos últimos, en los que cabía esperar unas cifras de PMN menores, se aprecian tasas 3 veces superiores a las obtenidas en los pretérminos con RPM. Una posible explicación sería el diferente origen de ambos procesos, ya que el parto pretérmino con membranas íntegras puede ser producido en una gran mayoría de casos por una corioamnionitis subclínica (55 , 65), mientras que la causa del parto pretérmino con RPM sería otra diferente a la infecciosa, aunque pueda instaurarse la infección ascendente si el lapsus es prolongado, los factores inmunitarios del huésped están debilitados o la conducta obstétrica es inadecuada.

En cuarto lugar, hemos comprobado el hecho de que en los partos con meconio no existe una gran elevación leucocitaria en la placa corial (mucho menor que en los partos con bolsa rota de 12 horas). Ello contradice la opinión de DOMINGUEZ y cols. (44), quienes han afirmado que el meconio es capaz de producir cambios inflamatorios similares a los hallados en las infecciones amnióticas y confirma los datos experimentales obtenidos por LAUWERYN y cols. (102) en conejos. Estos autores postulaban que la infiltración leucocitaria de la placa corial sólo es producida por gérmenes procedentes del canal del parto humano. Como veremos también en los siguientes apartados , las cifras de leucocitos PMN de las diferentes zonas de la placenta tampoco aumentan en los partos complicados con meconio.

* Polimorfonucleares en el espacio intervellositario

Con objeto de poder cuantificar el gradiente de emigración de los PMN en los procesos inflamatorios y de estudiar la relación existente entre dicha migración y el tiempo de bolsa rota, realizamos la cuantificación de los leucocitos PMN en las vellosidades coriales de tres zonas placentarias: la región subcorial, la intermedia y la parabasal.

Tanto en los partos y cesáreas del grupo de

control como del grupo I (BR entre 6 y 12 horas), el número de PMN intervellositarios es superior al que encontramos en la placa corial. Esto demuestra como, al menos en estos casos, no existe una emigración quimiotáctica que acumule estas células en un punto determinado de la placenta. En cambio, a partir de las 12 horas de la rotura de las membranas, los hallazgos son muy diferentes, encontrándose cifras muy inferiores de PMN entre las vellosidades que en la placa corial, lo que sugiere que existe un proceso migratorio acumulativo hacia esta zona.

En general, las cifras de PMN son ligeramentes superiores en las vellosidades cercanas a la placa basal, tal vez, debido a que en estas zonas la circulación es más profusa.

Otro dato a tener en cuenta, y que confirma los resultados precedentes, es que en el grupo de pretérminos hay siempre más leucocitos intervellosos en el grupo de bolsa íntegra que en el de bolsa rota, con cifras que oscilan entre el doble y el triple del otro grupo.

* Polimorfonucleares en la placa basal

Los PMN encontrados en la placa basal son muy escasos: oscilan entre 0 y 0,16 PMN/campo, en los diferentes grupos, no apreciándose diferencias significativas entre los grupos. De estos resultados, se puede deducir que no es frecuente la infiltración de PMN en la placa basal, ni siquiera en los ca



sos de corioamnionitis floridas. Contrasta esta escasa celularidad con el infiltrado tan profuso que puede encontrarse en los vasos deciduales.

* Monocitos

El estudio de los monocitos se limitó a las zonas en que se encuentran en mayor número, esto es, a los espacios intervellosos. Pudimos comprobar que, en general, son escasos y que sus cifras permanecen bastante constantes. Su relación con los PMN de la misma zona oscila entre 1/1,5 y 1/9.

Tan sólo hemos encontrado diferencias significativas entre el grupo IV y los demás. No hemos podido establecer ninguna relación entre el número de monocitos, el tiempo de bolsa rota, la prematuridad y la aparición de meconio, por lo que podemos afirmar que las corioamnionitis clínicas se acompañan de un gran aumento de PMN y de una pequeña elevación de monocitos intervellosos.

* Linfocitos

Al contrario de lo que sucede con los PMN, los linfocitos pueden infiltrar con cierta frecuencia la placa basal, aunque no hemos podido establecer ninguna relación ni con

la incidencia de corioamnionitis ni con el periodo de bolsa rota. Sólo el grupo III (BR más de 24 horas) presentó diferencias estadísticamente significativas con el resto.

También hemos estudiado la relación entre la infiltración linfocitaria y la tasa de linfocitos circulantes, tanto en la sangre materna como en la fetal, no encontrando ningún tipo de correlación. Se deduce de ello, que la infiltración linfocitaria de la placa basal no guarda ninguna relación con la cifra de linfocitos sanguíneos.

Finalmente, hemos encontrado una relación significativa entre la infiltración linfocitaria y la zona de implantación placentaria, de tal manera que en el 55 % de las placentas insertas en el fondo (alumbramiento tipo Schultze) uterino tenían infiltración linfocitaria, frente al 14,3 % de las placentas insertas en las caras laterales uterinas (alumbramiento tipo Duncan). La causa de esta relación no es fácil de explicar, pero podría ser debida a diferente irrigación de las placentas situadas en el fondo uterino en relación con las que se insertan en otras zonas uterinas.

6.2.2.2 Recuento leucocitario en las membranas ovulares

Los resultados obtenidos en el recuento leucocitario en las membranas ovulares son prácticamente superponibles a los hallados en la placa corial.

Se aprecia que la cifra aumenta ostensiblemente en relación al tiempo de bolsa rota, de donde se deduce que, al igual que en la placa corial, la diferencia entre las corioamnionitis histológicas y las clínicas no reside en la distribución de los leucocitos sino en el aumento de los mismos, hasta tal punto que las tasas pueden llegar a ser 10 veces superiores en las corioamnionitis clínicas que en las histológicas. En los casos complicados con meconio, la infiltración es escasa, e incluso menor, que en el grupo de control.

Finalmente, y al igual que ocurría en la placa corial, hemos observado cifras de PMN elevadas en los partos pretérminos, paradójicamente superiores en el grupo VI (bolsa íntegra) que en el grupo VII (bolsa rota)

6.2.2.3 Recuento leucocitario en el cordón umbilical

El recuento de PMN en el cordón umbilical es, generalmente, muy escaso. Se observa que, en todos los grupos excepto en el de corioamnionitis clínicas, la tasa leucocitaria es

casi inexistente, por lo que se deduce que en el cordón umbilical no aumentan los PMN en relación con el tiempo de rotura de las membranas, aparición de meconio o parto pretérmino. Igualmente, se puede inferir que las corioamnionitis histológicas no están, generalmente, relacionadas con las onfalitis, procesos que hemos encontrado solamente en los casos de procesos infecciosos amnióticos con síntomas materno-fetales.

En relación a la incidencia de onfalitis reportada por FOX (60), que oscila entre 2,15 % y 39 %, la tasa encontrada en nuestro estudio (1 caso, 2 %) es muy baja, sobre todo si consideramos que un porcentaje alto de los casos escogidos eran de alto riesgo para padecer procesos inflamatorios placentarios. Hay que resaltar que, precisamente, ese caso de corioamnionitis asociado a onfalitis fue el que presentó mayor fiebre materna (39°C), segunda mayor leucocitosis materna (28.300 leucocitos/ml) y mayor síndrome irritativo neurológico en el neonato. Se deduce, por lo menos en nuestra casuística, que cuando se asocian estos dos procesos histo-patológicos, los signos y síntomas clínicos son más evidentes y la morbilidad neonatal superior.

6.2.2.4 Recuento y fórmula leucocitaria en la sangre materna y fetal

El recuento leucocitario en la sangre mater-

na durante el parto ha sido de 13.580 ± 4.509 cel/ml, en el grupo de control. Este dato coincide plenamente con los aportados por otros autores (50 , 188,192), apreciándose una leucocitosis con neutrofilia típica del embarazo, del parto y del puerperio. Hemos podido constatar un aumento acusado del recuento a medida se incrementa el tiempo de rotura de las membranas; dicho aumento es mucho más evidente en el grupo de corioamnionitis clínicas, superando la media los 25.000 leucocitos por mililitro.

Al igual que sucedía con el recuento de PMN en la placenta y en las membranas ovulares, llama la atención de nuevo, el hecho de que haya una mayor leucocitosis en el grupo de pretérminos con bolsa íntegra (17.800 leucocitos/ml) en relación al grupo de pretérminos con bolsa rota (14.950 leucocitos/ml). La única explicación que encontramos es la ya expuesta en los apartados anteriores.

La fórmula leucocitaria, sin embargo, no experimenta las mismas modificaciones que el recuento, por lo que no puede emplearse como indicador de la evolución de un proceso infeccioso amniótico.

El recuento leucocitario sanguíneo fetal en el grupo de control ha sido de 12.180 ± 2.917 cel./ml. Este dato coincide totalmente con los aportados por DURAN DE VARGAS (49)

recogidos en nuestro mismo medio, y con los aportados por otros autores (140,172 , 92 , 42). Hay que resaltar que se produce un aumento progresivo del recuento leucocitario, a medida que se incrementa el tiempo de bolsa rota, aunque dicho aumento no es significativo, por lo que, dudosamente, puede ser de utilidad clínica.

Finalmente, hay que resaltar dos hechos importantes. El primero es que, como en todos los parámetros anteriores, hay mayor leucocitosis fetal en los pretérminos con bolsa íntegra que en aquéllos que tenían la bolsa rota. En segundo lugar, hay que hacer notar que en los casos complicados con meconio la cifra de leucocitos sanguíneos fetales se eleva considerablemente (18.200 cel./ml)). Este hallazgo podría explicarse no como una acción directa del meconio sobre el neonato, sino a través del estrés que produce la acidosis fetal, que sería la causa de ambos procesos, de la expulsión del meconio y de la leucocitosis fetal.

6.2.3 ANÁLISIS CONJUNTO POR GRUPOS DE ESTUDIO

6.2.3.1 Embarazos a término

El análisis conjunto de los datos obtenidos

en los parámetros morfológicos, en el recuento leucocitario de la placenta, de las membranas ovulares, del cordón umbilical y de la sangre materna y fetal, de los diferentes grupos de estudio, ha demostrado ser de gran utilidad en la diferenciación de las placentas normales de aquéllas con corioamnionitis histológicas, y entre éstas y las placentas con corioamnionitis clínicas.

Hemos hallado que los índices nudos sincitiales/ MVS de las diferentes localizaciones placentarias no presentan relaciones significativas. Sin embargo, las cifras porcentuales de uno y otro parámetro sí experimentan descensos marcados ($p < 0,05$) en las vellosidades subcoriales de los casos con corioamnionitis clínicas, en contraste con la ausencia de modificaciones en las corioamnionitis histológicas. La explicación de este fenómeno no es fácil, ya que en general, el aumento de los nudos sincitiales es reflejo de un envejecimiento "fisiológico" de la placenta, por lo que su disminución en las corioamnionitis clínicas podría ser la expresión de un proceso de detención de la evolución normal de la placenta. La causa del descenso del porcentaje de MVS podría explicarse de acuerdo con la aparición de un cierto grado de hipoxia fetal en las pacientes con corioamnionitis clínicas, que no existiría en los casos de corioamnionitis histológicas. Así pues, la hipoxia fetal podría producir, según FOX (61), un colapso generalizado de los capilares vellositarios, observándose al microscopio óptico una aparente disminu-

ción del número de dilataciones vasculares (MVS). Según estos datos, el porcentaje de MVS podría ser un parámetro discriminativo entre ambos tipos de corioamnionitis.

En relación a los otros parámetros morfológicos, se observa que el índice número de capas deciduales/número de capas citotrofoblásticas aumenta de 1 a 2 a partir de las 12 horas de bolsa rota, coincidiendo con la mayor frecuencia de corioamnionitis histológicas. Sin embargo, este índice es similar (2,1) en los casos en que aparece una corioamnionitis clínica, por lo que no puede ser utilizado como diferencial entre ambos procesos.

A pesar de la importancia discriminativa de algunos parámetros morfológicos, han sido el recuento leucocitario de PMN en la placa corial, en las membranas ovulares y el índice PMN en la placa corial/ PMN en las vellosidades subcoriales los que parecen tener un mayor carácter diferencial entre las corioamnionitis histológicas y las clínicas. Cuando se realizan los dos primeros parámetros, hay casi 10 veces más PMN en las corioamnionitis clínicas (266,2 frente a 32,6 y 234,6 frente a 36,6) que en las histológicas clásicas. El cociente entre la cantidad de PMN en la placa corial y en las vellosidades subcoriales permite estudiar el grado de emigraciónleucocitaria hacia la superficie amniótica. El valor de este índice es casi cuatro veces su

perior -77- en las corioamnionitis clínicas. De estos datos, deducimos que la diferencia entre ambos procesos es, fundamentalmente, cuantitativa, de manera que, cuando la infiltración leucocitaria supera la barrera de los 200 PMN/campo en la placa corial o en las membranas ovulares, y el índice de PMN en la placa corial/ PMN en las vellosidades subcoriales se acerca a 70, posiblemente estemos ante un caso real de corioamnionitis clínica, con el consiguiente riesgo para el neonato y la madre. Estos datos nos permiten afirmar que en el momento actual se están catalogando de infecciones amnióticas o de corioamnionitis, procesos que no tienen repercusión o correlación con la clínica, por lo que los criterios histológicos exigen un nuevo replanteamiento acorde con los datos obtenidos en las diferentes experiencias de nuestro trabajo.

Por último, y dentro del apartado de partos a término, el índice entre el número de leucocitos en la sangre materna y el número de leucocitos en la sangre fetal, que es de 1,1 en el grupo de control, experimenta una elevación importante en los casos de corioamnionitis clínicas -1,5-, a expensas fundamentalmente, de un aumento del número total de leucocitos en la sangre materna. Por consiguiente, dicho índice podría ser de gran utilidad discriminativa.

6.2.3.2 Embarazos pretérminos

El estudio de la normalidad de todos estos parámetros en los grupos de partos pretérminos (VI y VII) es más dificultoso ya que, en nuestra opinión, los partos con bolsa íntegra no pueden tomarse como controles de los partos pretérminos con la bolsa rota. Cuando se analizan los resultados obtenidos en estos dos grupos, podemos observar que, en general, el recuento leucocitario es superior en los casos de partos pretérminos con la bolsa íntegra. tanto en la placa corial como en las membranas ovulares, en la sangre materna y en la fetal. También el cociente entre el número de capas deciduales y citotrofoblásticas (que, como hemos visto está aumentado en las corioamnionitis clínicas e histológicas en los grupos a término) está muy aumentado, siendo 5 veces superior al obtenido en el grupo de control.

De todas estas observaciones, podemos deducir que no es factible utilizar con fiabilidad los hallazgos de los partos a término para diferenciar las corioamnionitis clínicas de las histológicas clásicas en los partos pretérminos.

6.2.4 CORIOAMNIONITIS Y PARAMETROS CLINICOS

De todos los parámetros estudiados sólo han

podido relacionarse con la aparición de corioamnionitis histológicas, los siguientes: la fiebre materna anteparto, la duración del parto, la fiebre intraparto, la temperatura del neonato y la aparición de un cuadro de infección neonatal.

El 100 % de las pacientes que presentaron fiebre anteparto, fueron diagnosticados con los criterios clásicos, tanto de corioamnionitis histológicas como clínicas. De las pacientes apiréticas que presentaron corioamnionitis histológica (27,7 %), el 44,4 % presentó corioamnionitis clínica. Se puede deducir de estos datos que, en general, la aparición de fiebre anteparto va asociada al desarrollo de una corioamnionitis clínica e histológica, mientras que en las pacientes apiréticas sólo la cuarta parte desarrollará un cuadro de corioamnionitis histológica.

El 85,7 % de las pacientes con partos prolongados (más de 20 horas) presentó una corioamnionitis histológica, mientras que solamente el 50 % presentó sintomatología de corioamnionitis clínica. Por el contrario, el 23,3 % de las pacientes con partos no prolongados fue catalogado de corioamnionitis histológica, según los patrones clásicos, mientras que el 40 % desarrolló el cuadro clínico. De estos datos, se deduce que la duración del parto presenta una relación con la corioamnionitis histológica clásica pero no se corresponde con el curso clínico de

la misma.

De las 7 pacientes que presentaron fiebre intraparto, el 100 % desarrolló una corioamnionitis histológica y el 71,4 % una corioamnionitis clínica. De las 43 pacientes restantes que no tuvieron fiebre intraparto, 9 (20,9%) presentaron corioamnionitis histológicas y 2 de ellas (4,7 %) infecciones clínicas. Se puede deducir de estos hallazgos que, en general , siempre que existe un cuadro febril intraparto aparece una corioamnionitis histológica y, en las tres cuartas partes de los casos, se asocia a un cuadro con repercusión clínica. Hay que resaltar que las 2 pacientes afebriles con corioamnionitis clínica pertenecían a los grupos VI y VII -de partos pretérminos- cuyas características clínicas y anatómo-patológicas no son en absoluto extrapolables a los partos a término.

La temperatura rectal del neonato superior a 37,5 °C ha sido un parámetro que ha presentado una estrecha correlación con la aparición de una corioamnionitis histológica (5 de 5, 100 %). Sin embargo, no es de utilidad para predecir el desarrollo del cuadro clínico por dos razones: en primer lugar , porque solamente el 40 % de los RN a término con corioamnionitis clínica presentaron hipertermia, y en segundo lugar, porque ninguno de los prematuros con corioamnionitis clínica desarrolló temperaturas superiores a 37,5°C, sino que, por el contrario, presentaron hipotermias. Este último hecho puede explicarse en |

función de la inmadurez del sistema termorregulador de los pre-
términos ante cualquier influencia patológica.

Por último, hay que destacar que el 100 % de los neonatos que procedían de gestantes diagnosticadas de una corioamnionitis clínica desarrolló una infección neonatal clínica, aunque en sólo dos casos pudo demostrarse el germen causal mediante un hemocultivo. Por otra parte, de las 16 corioamnionitis histológicas, tan sólo 7 neonatos presentaron un cuadro de infección neonatal (43,75 %).

De todos estos datos, puede deducirse que no existe una buena correlación entre los datos clínicos y los parámetros empleados hasta la actualidad para el diagnóstico histopatológico de corioamnionitis, cuadro que se presenta en un gran número de casos en los que no existe ningún signo ni síntoma clínico y, en consecuencia, ninguna repercusión neonatal -como lo demuestra el hecho de que el 27,5 % de las gestantes que fueron catalogadas a posteriori de corioamnionitis histológicas nunca presentaron fiebre, ni en el embarazo ni en el parto. Por el contrario, el diseño del estudio realizado ha permitido establecer con claridad una correspondencia de los hallazgos histológicos obtenidos a partir de cuadros clínicos previamente definidos. En consecuencia, ha sido posible establecer los parámetros anatómopatológicos que permiten definir cuantitativamente, y con plena

correlación clínica el diagnóstico de corioamnionitis, unificando definitivamente las características clínicas y las histológicas.

CONCLUSIONES

PRIMERA

La técnica de la DAB-Cl₂Co permite realizar el estudio morfológico de la placenta, de las membranas ovulares y del cordón umbilical, incluidos en parafina, con la misma calidad y eficacia que la técnica de la Hematoxilina-Eosina.

SEGUNDA

Dicha técnica presenta ventajas muy superiores a la de la Hematoxilina-Eosina, en la identificación y recuento de los leucocitos en los anejos ovulares, tanto normales como patológicos.

TERCERA

En la gestación a término existe una relación, directamente proporcional, entre el tiempo de bolsa rota y los siguientes parámetros morfológicos: el número de membranas vasculo-sincitiales, el número de vasos de las vellosidades terminales, el número de capas de células citotrofoblásticas de las membranas ovulares y el número de capas celulares de la decidua desprendida en el momento del parto. Por el contrario, no existe ninguna relación con el número de nudos sincitiales, con la presencia de necrosis fibrinoide y con la existencia de edema vellositario.

CUARTA

En la gestación a término, complicada con la presencia de meconio, no se observa ningún signo histopatológico que indique la existencia de una corioamnionitis.

QUINTA

La estimación de la edad gestacional mediante el estudio del epitelio amniótico es muy exacta en los partos a término, siempre que la evaluación se realice en el epitelio de la placa corial.

SEXTA

En el grupo de gestantes catalogadas de "corioamnionitis clínica" existe una importante disminución del número de nudos sincitiales, de membranas vâsculo-sincitiales y de vasos intravellositarios.

SEPTIMA

En la gestación pretérmino con o sin RPM, se observa la aparición de un importante edema vellositario y una disminución del número de vasos, a diferencia de lo encontrado en las gestantes a término.

OCTAVA

En la gestación normal a término, existe una relación directa entre el tiempo de bolsa rota y el número de leucocitos existentes en las diferentes localizaciones de la placenta y de las membranas ovulares.

NOVENA

Los embarazos pretérminos presentan parámetros anátomo-patológicos muy diferentes, dependiendo de la existencia o no de una rotura prematura de membranas. Paradójicamente, en los pretérminos con membranas ovulares íntegras, se obtienen recuentos leucocitarios muy superiores a los encontrados en los casos con RPM. Por el contrario, este último grupo presenta una importante disminución del número de nudos sincitiales, de membranas vâsculo-sincitiales y de necrosis fibrinoide en la zona subcorial.

DECIMA

Los únicos criterios histopatológicos que definen la existencia de una corioamnionitis "clínico-patológica" son: una infiltración de leucocitos PMN igual o superior a 200 células por campo, en la placa corial y/o en las membranas ovulares, y la existencia de un índice de "PMN en la placa corial/PMN en la zona subcorial" superior a 70. Por debajo de estas ci-

fras, la infiltración leucocitaria, al menos en nuestra experien
cia, no tiene repercusiones clínicas.

RESUMEN



El estudio de las infecciones amnióticas o corioamnionitis ha ocupado a numerosos investigadores, ya que este problema continúa siendo una de las causas más importantes de morbi-mortalidad perinatal y neonatal. Bajo el término de corioamnionitis se agrupan conceptos muy diferentes, según sea utilizado por los clínicos, microbiólogos o patólogos, lo que ha contribuido a crear un clima de confusión en la comprensión del problema.

Desde el punto de vista clínico, la aparición en una gestante de fiebre materna, rotura prematura de membranas, taquicardia materna o fetal, dolor a la palpación uterina, trabajo prematuro de parto y fetidez en el líquido amniótico sugieren la existencia de una corioamnionitis. Los criterios microbiológicos de la infección amniótica son el crecimiento bacteriano de más de 100 colonias por mililitro de líquido amniótico o la presencia de bacterias en un frotis teñido con Gram. Finalmente, la corioamnionitis histológica vendría definida como el acúmulo de leucocitos PMN en el espacio subcorial y en las membranas ovulares.

La revisión de los datos aportados por la bibliografía muestra una gran diversidad de términos empleados para definir un mismo concepto, así como una gran disparidad de cri

terios empleados para catalogar la corioamnionitis histológica. Podría incluso decirse que su diagnóstico se basa muchas veces en criterios unipersonales. Sin embargo, el problema de mayor trascendencia es, a nuestro juicio, la ausencia de correlación entre los datos clínicos y los hallazgos anátomo-patológicos, hasta tal punto de que podría pensarse que se trata de dos entidades diferentes.

La gran dispersión de criterios existentes y la ausencia de relaciones interdisciplinarias en el enfoque de las corioamnionitis, sería debida a la ausencia de datos que permitan establecer la frontera entre lo normal y lo patológico, especialmente, en lo que se refiere a la presencia de leucocitos en la placenta, en las membranas ovulares y en el cordón umbilical.

En base al estado actual del problema, nos propusimos realizar un estudio histoquímico de los anejos ovulares, a partir de unas situaciones clínicas previamente definidas, empleando para ello una nueva técnica de tinción a base de Diaminobencidina-Cloruro de Cobalto. Dicha tinción es altamente selectiva para todas las estirpes leucocitarias, lo que permite su fácil identificación y recuento. Por otra parte, hemos procedido a la valoración en cada caso de distintos parámetros morfológicos y

leucocitarios, en relación al tiempo de bolsa rota, a la edad gestacional, a la presencia de meconio y a la existencia de corioamnionitis clínica.

De los resultados obtenidos, se puede deducir que la técnica de la DAB-Cl₂Co permite realizar el estudio morfológico de la placenta, de las membranas ovulares y del cordón umbilical, con la misma calidad y eficacia que la técnica de la Hematoxilina-Eosina. No obstante, aquélla presenta ventajas muy superiores a la de la H-E en la identificación y recuento de los leucocitos, en todas las zonas de los anejos ovulares, realizando una fijación selectiva de los reactivos al núcleo de los leucocitos -posiblemente, a las protaminas y/o histonas-.

En relación a los parámetros morfológicos, hemos encontrado tasas de nudos sincitiales y de MVS superiores a las comunicadas por otros autores, sin que podamos relacionar este aumento con una patología placentaria definida. en los embarazos a término, existe una relación directamente proporcional, entre el tiempo de bolsa rota y el número de MVS, vasos intravellositarios, capas de células citotrofoblásticas y deciduales.

No hemos hallado ningún signo de corioamnionitis en los embarazos complicados con meconio, lo que nos permite afirmar que este "irritante aséptico" es incapaz de desarrollar

alteraciones histopatológicas similares a las producidas en las infecciones amnióticas. También se ha encontrado una excelente correlación entre la edad gestacional y la amenorrea estimada por el estudio del epitelio amniótico de la placa corial.

En los casos de corioamnionitis clínicas, se aprecia una importante disminución del número de nudos sincitiales, de MVS y de vasos en las vellosidades terminales.

En relación a los parámetros leucocitarios, hemos encontrado en la gestación normal a término, una relación directa entre el número de horas de bolsa rota y el número de leucocitos PMN existentes en todas las localizaciones placentarias y de las membranas ovulares. Los embarazos pretérminos se comportan, en relación con la existencia o no de RPM, de forma inversa a los embarazos a término. De todo ello, se deduce que no son extrapolables los parámetros histopatológicos en ambos grupos.

Finalmente, podemos concluir en base a los datos aportados, que la existencia de una corioamnionitis "clínico-patológica" sólo puede ser definida cuando haya una infiltración de leucocitos PMN superior a 200/campo, en la placa corial y/o en las membranas ovulares, y exista un índice de "PMN en la placa corial/PMN en la zona subcorial" superior a 70. Con cifras

inferiores, la infiltración leucocitaria no tiene repercusiones
clínicas.

BIBLIOGRAFIA

1. AARNOUDSE JG y HUISJES HJ: "Complications of cerclage"
Acta Obstet. Gynecol. 58:225-227 (1979)

2. ADINOLFI M: "Two aspects of the materno-fetal relation: the immunosuppressive role of alpha-fetoprotein and the transfer of lymphocytes across the placenta". En Immunological factors in human reproduction. Serono Symposium nº 45. Academic Press 199-212 (1982)

3. ALTHABE O y LABARRERE C: "Chronic villitis of unknown aetiology and intrauterine growth retarded infants of normal and low ponderal index". Placenta 6:369 (1985)

4. ALTSHULER G: "Immunologic competence of the immature human fetus. Morphologic evidence from intrauterine cytomegalovirus infection. Obstet. Gynecol. 43:811 (1974)

5. ALTSHULER G y RUSSELL P: "The human placental villitides: a review of chronic uterine infection". currents Topics in Pathology 60:64 (1975)

6. ALVAREZ H: "Prolifération du trophoblaste et sa relation avec l'hypertension artérielle de la toxémie gravidique". Gynécologie et Obstétrique 69:581 (1970)

7. ANDREYKO JL, CHEN CP, SHENNAN AT y cols.: "Results of conservative management of PROM". Am.J.Obstet.Gynecol. 148:600 (1984)

8. APPELBAUM PC, HOLLOWAY Y, ROSS SH y cols.: "The effects of amniotic fluid on bacterial growth in three population groups". | Am.J.Obstet.Gynecol. 128:868 (1977)

9. AQUINO TJ, ZHANG J y cols.: "Subchorionic fibrin cultures for bacteriologic study of the placenta". Am.J.Clin.Pathol. 81:482 | (1984)

10. ARTAL R, SOKOL R, NEUMAN M y cols.: "The mechanical properties of prematurely and non-prematurely ruptured membranes". Am. J.Obste.Gynecol. 125:655 (1976)

11. BACON B, GILBERT RD y LONGO LD: "Regional anatomy of the term Human placenta". Placenta 7:233 (1986)

12. BARRETT JM y BOEHM FM: "Comparison of aggressive and conservative management of PROM". Am.J.Obstet.Gynecol. 144:12 (1982)

13. BASTER G, STILLEW, HOVELMANN H y cols.: "Vorzeitiger Blasensprung und aszendiendle Fruchwassereinfektion: experimentelle Untersuchungen" . Zeitschrift für Geburtshilfe und Perinatologie | 177:193 (1973)

14. BAUER CR, STERN L y COLLE E: "Prolonged rupture of membranes associated with a decreased incidence of respiratory distress | syndrome". Pediatrics 53:7 (1974)

15. BECKER V y BLEYL U: "Plazentarzotte bei Schwangerschaftotoxi | kose und fetaler Erythroblastose in fluoreszenzmikroskopischen | Bilde". Virchows Archiv für pathologische Anatomie und Physiolo- | gie und für Klinische Medizin. 334:516 (1961)

16. BEDOYA JM y ORENSE C: "La analgesia en el parto mediante go- | teo endovenoso de Thiopental sódico. Técnica" Labor 2:33 (1962)

17. BEDOYA JM y ORENSE C: "Resultados de la analgesia en el par- | to mediante goteo endovenoso de Thiopental sódico. Análisis de 700 | casos". Labor 2 :41 (1962)

18. BEHRMAN RE: Tratado de Neonatología. Ed. Med. Panamericana , | Buenos aires (1976)

19. BENNIRSCHKE K y CLIFFORD SH: "Intrauterine bacterial infec- | tion of the newborn: forzen section of the cord as an aid to ear- | ly diagnosis". Journal of Pediatrics 54:11 (1959)

20. BENNIRSCHKE K: "Routes and types of infection in the fetus | and newborn". Am.J.Dis.Child. 99:714 (1960)

21. BAHSKAR RK, SWANIDASAM G y WIMLA G: "Chorioamnionitis". Journal of Obstetrics and Gynecology of India 16:223 (1966)
22. BILLINGTON WD y KIRBY DR: "Placental barrier to maternal | cells". Nature 224:704 (1969)
23. BLANC WA: "Pathways of fetal and early neonatal infection: vi | ral placentitis, bacterial and fungal chorioamnionitis". Journal of Pediatrics 59:473 (1961)
24. BLANC WA: "Pathology of the placenta, membranes and umbilical | cord in bacterial, fungal and viral infection in man". En Perinatal diseases, Baltimore, Williams & Wilkins, pp. 71 (1981)
25. BLOCK MF, KLING OR y CROSBY WM: "Antenatal glucocorticoids | therapy for the prevention of respiratory distress syndrome in | the premature infant". Obste.Gynecol. 50:186 (1977)
26. BOBITT JR y LEDGER WJ: "Amniotic fluid analysis". Obstet.Gynecol 51:56 (1978)
27. BOBITT JR, HAYSLIP CC y DAMATO JD: "Amniotic fluid infection | as determined by transabdominal amniocentesis in patients with | intact membranes in premature labor". Am.J.Obstet.Gynecol. 140: | 947 (1981)

28. BOURNE G: "The human amnion and chorion". London: Lloyd-Luke (Medical Books) (1962)
29. BOYD PA, BROWN RA y STEWART WJ: "Quantitative structural differences within the normal term human placenta: a pilot study" | Placent I:337 (1980)
30. BULMER JN y JOHNSON PM: "Macrophage populations in the human placenta and amniochorion". Clinical and experimental immunology 57:393 (1984)
31. BURSTEIN R, FRANKEL S, SOULE SD y cols.: "Ageing of the placenta: autoimmune theory of senescence". Am.J.Obstet.Gynecol.116 271 (1973)
32. COLLABORATIVE GROUP ON ANTENATAL STEROID THERAPY: "Effect of | antenatal dexamethasone administration on the prevention of respiratory distress syndrome". Am.J.Obstet.Gynecol. 141:276 (1981)
33. COOPERMAN NR, KASIN M y RAJASSCHEKZAI AH KR: "Clinical significance of amniotic fluid, amniotic membranes and endometrial | cultures at the time of cesarean section". AM.J.Obstet.Gynecol. | 137:536 (1980)
34. COTTON DB, LYNDON M, HOWARD TS y cols.: "Use of amniocentesis in preterm gestation with ruptured membranes". Obstet.Gynecol 63:

38 (1984)

35. CREADICK AN: "The frequency and significance of onphalitis".
Surgery, Ginecology and Obstetrics 30:278 (1920)

36. CHELLAM DG y RUSHTON DI: "Chorioamnionitis and funiculitis |
in the placentas of 200 births weighing less than 2,5 kg". Bri-|
tish Journal of Obstetrics and Ginecology 92:808 (1985)

37. CHERRY SH, FILLER M y HARVEY H: "Lysozime content of amnio-|
tic fluid". Am.J.Obstet.Gynecol. 116:639 (1973)

38. CHIVA L, CARRIZO R, HERRERO O y cols.: "Aceleración de la di-
latación cervical con Pentothal-oxitocina". Rev.Esp.Obst.Ginecol
40:257 (1981)

39. DAIKOKU N, KALTREIDER F, JOHNSON T Y cols.: "Premature ruptu-
re of membranes and preterm labor: neonatal infection and perina-
tal mortality risks". Obstet.Gynecol. 58:417 (1981)

40. DAVIES BR, CASANUEVA E y ARROYO P: "placentas of small-for-|
dates: A small controlled series from Mexico City, Mexico". Obs-
tet.Gyncecol. 149:731 (1984)

41. DESAI RG y CREGER WP: "Maternofoetal passage of leucocytes |

and platelets in man". Blood 21:665 (1963)

42. DIAZ DEL CASTILLO E: "Pediatria perinatal". Nueva editorial | Interamericana, Mexico (1974)

43. DLUHOLUCK YS, BABIC J y TAUFER I: "Reduction of incidence | and mortality distress syndrome by administration of hydrocorti- sone to mother". Arch.Dis.Child 51:420 (1976)

44. DOMINGUEZ R, SEGAL AJ y O'SULLIVAN JA: "Leukocyte infiltra- | tion of the umbilical cord". J.Am.Med.Assoc. 173:346 (1960)

45. DRISCOLL SG: "Significance of acute chorioamnionitis" Clin. | Obstet.Gynecol. 22:339 (1979)

46. DUEÑAS JL, WEGMANN R y PANIGEL M: "Specific nuclear staining of leukocytes , macrophages and mast cells using a Diaminobenzi- dine-Cobalt Chloride mixture". Cellular and Molecular Biology 30 (6):525 (1984)

47 DUEÑAS JL, WEGMANN R, PANIGEL M y NAVARRO J: "Transferencia | de leucocitos en la placenta humana: estudio mediante la técnica de la Diaminobencidina-cloruro de cobalto". Clin.Invest.Gin.Obs- tet.13:103 (1985)

48. DUFF P, SANDERS R y GIBBS R: "The course of labor in tem patients with chorioamnionitis". Am.J.Obstet.Gynecol. 147:391 | (1983)
49. DURAN DE VARGAS LE: Tesis doctoral "Contribución al estudio de los parámetros físicos, hematológicos y bioquímicos en el recién nacido a término, en la provincia de Sevilla" (1977)
50. EFRATI P, PRESENTEY B, MARGALITH Y y cols.: "Leukocytes of | normal pregnant women". Obstet.Gynecol.23:429 (1964)
51. EMIG OR, NAPIER JV y BRAZIE JV: "Inflammation of the placenta correlation with prematurity and perinatal death". Obstet. Gynecol. 17:743 (1961)
52. EVALDSON G, LAGRELIUS A y WINIARSKI J: "Premature rupture of the membranes" Acta Obstet.Gynecol.Scand. 59:385 (1980)
53. EVANS HE, LEVY E y GLASS L: "Effect of amniotic fluid on bacterial growth" Obstet.Gynecol. 49:35 (1977)
54. FABIANI F, GARRIDO R, LOPEZ J Y cols.: "Concentración sanguínea de tiobarbital en partos conducidos bajo analgesia según el "método sevillano" (determinación por cromatografía gaseosa)". To-ko-Gin. Pract. 40:31 (1981)

55. FABRE E, HORNO M, BESCOS JL y cols.: "Infección amniótica". Ponencia al tema oficial: rotura prematura de membranas. XVIII Reunión de ginecólogos españoles. Granada. pp.7-32 (1985)
56. FILKER R y MONIF G: "The significance of temperature during the first 24 hours postpartum". Obstet.Gynecol. 53:358 (1978)
57. FORD LC, DELANOE RJ y LEBHERZ TB: "Identification of a bactericidal factor (beta-lysin) in amniotic fluid at 14 and 40 weeks gestation". AM.J.Obstet.Gynecol. 127:788 (1977)
58. FOX H: "The significance of villous sincitial knots in the human placenta". Journal of Obstetrics and Gynecology of the British Commonwealth 71:885 (1965)
59. FOX H y AGROFOJO-BLANCO A: "Scanning electron microscopy of the human placenta in normal and abnormal pregnancies". European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology 4: 45 (1974)
60. FOX H: "Pathology of the placenta". Volumen VII en la serie "Major problems in Pathology" (1978)
61. FOX H: "Pathology of the placenta". Clin.Obstet.Gynecol 13 : 501 (1986)

62. GALASK RP y SNYDER IS: "Bacterial inhibition by amniotic fluid". Am.J.Obstet.Gynecol.102:949 (1968)
63. GAMSU H: "Intrauterine bacterial infections", en A CIBA Foundation Symposiun (new series) (1973)
64. GARITE TJ, FREEMAN RK, LINZEY E y cols.: "The use of amniocentesis in patients with premature rupture of membranes". Obstet. Gynecol. 54:226 (1979)
65. GARITE TJ y FREEMAN: "Chorioamnionitis in the preterm gestation". Obstet.Gynecol. 59:539 (1982)
66. GARZON JA y MONTERO J: "Consideraciones estadísticas sobre 2500 partos conducidos mediante la combinación de tiobarbital-oxitócicos". Toko-Gin. Pract. 34:875 (1975)
67. GASSNER CB y LEDGER WJ: "The relationship of hospital acquired maternal infections to invasive intra-partum monitoring techniques". Am.J.Obstet.Gynecol 126:33 (1976)
68. GHILAIN, ROSA y SNOECK: "La béauce du col. Modalités d'action et resultats thérapeutiques". Gynecol.Obstet. 15:391 (1963)
69. GIBBS R, CASTILLO M y RODGER P: "Management of acute chorioamnionitis". Am.J.Obstet.Gynecol. 136:709 (1980)

70. GNARPE H y FRIBERG J: "T-Mycoplamas on spermatozoa and infertility". Nature 245:97 (1973)
71. GONIK B, BOTTOMS S y COTTON D: "Amniotic fluid volume as a | risk factor in preterm ruptures of the membranes". Obstet.Gyne-| col. 65:456(1985)
72. GOODLIN RC: "Orgasm and premature labor". Lancet 2:646 (1969)
73. GOODLIN RC, KELLER DW y RAFFIN M: "Orgasm during late preg-| nancy: posible deleterious effects". Obstet.Gynecol.38:916 (1971)
74. GOODLIN RC, SCHMIDT W y CREEVY DC: "Uterine tension and fe-| tal heart rate during maternal orgasm". Obstet.Gynecol. 39 : 125 (1972)
75. GORDON H y WEINGOLD AB: "PROM: A rational approach to manage-| ment", en Reid D,Christian (eds.): Controversy in Obstetrics & | gynecology (Philadelphia) WB Saunders, pp 38 (1974)
76. GRAVETT MG, HUMMEL D, ESCHEMBACH DA y cols.: "Parto prematu-| ro asociado con infección subclínica del líquido amniótico y va-| ginosis bacteriana" Obstet.Gynecol. 67:229 (1986)(Yearbook)
77. GUZICK D y WINN K: "The association of chorioamnionitis with preterm delivery". Obstet.Gynecol. 65:11 (1985)

78. HAAG B, DECKER K, HINSELMANN H y cols.: "Bakteriologische be-
funde und infektionsgefährdung bei diagnostischer Fruchtwasserpun-
tion". Gynäkologische Rudschau 14, Supplement I, 59 (1974)
79. HAMEED C, NERGESH MD y VERMA V: "Silent chorioamnionitis as |
a cause of preterm labor refractory to tocolitic therapy". Obstet
Gynecol. 149:726 (1984)
80. HARDT N, KOSTENBAUDER M, OGBURN M y cols.: "Influence of cho-
rioamnionitis on long-term prognosis in low birth weight infants
Obstet.Gynecol. 65:5 (1985)
81. HAUTH JC, GILSTRAP LC, HANKINS GD y cols.: "Complicaciones ma-
ternas a término y neonatales de la corioamnionitis aguda". Obs-
tet.Gynecol. 66:59 (1985) (Yearbook)
82. HAWRYLYSHYN P, BERSTEIN P, MILLIGAN Y cols.: "PROM: The role
of c-reactive protein in the prediction of chorioamnionitis". |
Am.J.Obstet.Gynecol. 147:240 (1983)
83. HERBST AL: "Coitus and the fetus" N.Engl.J.Med. 301:1235 |
(1979)
84. HERZEMBERG L, BIANCHI D, SCHRODER J y cols.: "Fetal cells in
the blood of pregnant women: detection and enrichment by fluores-
cence-activated cell sorting". Proc.Natl.Acad.Sc.USA, Vol.76(3)
pp.1453 Medical Sciences (1979)

85. HOLLANDER D: "Diagnóstico de corioamnionitis" Clin.Obstet. | Ginecol. 1027:1037 (1986)
86. HORMANN G: "Ein Beitrag zur funktionen Morphologie der menschlichen Placenta". Archiv für Gynäkologie 184:123 (1953)
87. HORMANN G: "Zur Systematik einer Pathologie der menschlichen Placenta". Archiv für Gynäkologie 191:297 (1958)
88. ISMAIL MA, YANG S, ABUSHARIF AN y cols.: "Inmunoglobulinas | en la rotura prematura de las membranas". Am.J.Obstet.Gynecol. | 153:390 (1985)
89. JAKOBOWITZ A y TRAUB B: "Klinische Bedeutung der fibrinoides Degeneration von Chorionzotten". Zentralblatt für Gynäkologie 94: 16 (1972)
90. JONES CP y FOX H: "Sincitial knots and intervillous bridges | in the human placenta: an structural study". Journal of Anatomy 124:275 (1970)
91. KERISIT J, DE VILLARTAY A y LE GUICHER P: "Candidose placentaire; a propose d'une observation". Ouest Médical 26:1478(1973)
92. KALUS MH y FANAROFF A: "asistencia del recién nacido de alto

riesgo". Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires (1975)

93. KNOX WF y FOX H: "Villitis of unknown aetiology: its incidence and significance in placentae from a British population". Placenta 5:395 (1984)

94. KOH K, CHAN F, MONFARED A y cols.: "The changing perinatal and maternal outcome in chorioamnionitis". Obstet.Gynecol.53:730 (1979)

95. KOPOBURU SF y AGUADO H: "El tiobarbital al 4 por mil en analgesia obstétrica". Rev.Esp.Obst.y Ginec. 35:274 (1976)

96. KUNH RJ y PEPPERELL RJ: "Cervical ligation: a review of 242 pregnancies" Aus.Nz.J.Obstet.Gynecol. 17:79 (1977)

97. LABARRERE C, ALTHABE D y TELENTA M: "Chronic villitis of unknown aetiology in placentae of idiopathic small for gestational age infants". Placenta 3:309 (1982)

98. LARSEN JW, GOLDKRAND JW, HANSON TM y cols.: "Intrauterine infection on an obstetric service". Obstet. Gynecol. 43:838 (1974)

99. LARSEN B y GALASK RP: "Vaginal microbial flora: Practical and theoretic relevance". Pbstet.Gynecol. 55:1005 (1980)

100. LARSEN B y DAVIS B: "Enhancement of the antibacterial property of amniotic fluid by hipertermia". *Obstet.Gynecol.* 63:425 (1984)
101. LAUKIENICKI A, MEYER J y WELENTO C: "Zmiany morfologiczne u pepowinie a zakazemie u ciezarnej i zakazemie wernatrzmarciczne plodu (Cambios morfológicos en el cordón umbilical en gestantes y sus fetos). *Ginekologia Polska* 34:569 (1963)
102. LAUWERYN J: "Intrauterine pneumonia. An experimental study." *Biol. Neonate* 22:301 (1973)
103. LAVERY JP, MILLER CE y JOHNS P: "Effect of meconium on the strength of chorioamnionitis membranes". *Obstet.Gynecol.* 56: 711 (1980)
104. LAVERY JP y MILLER CE: "Effect of prostaglandin and seminal fluid on human chorioamniotic membranes". *JAMA* 245:2425 (1981)
105. LEDGER WJ: "Amnionitis, endometritis and premature rupture of the membranes". *Currents Concepts*. Kalamazoo. Michigan. The Upjohn Company (1976)
106. LEDGER WJ: "premature rupture of membranes and maternal-fetal infection". *Clin.Obstet.Gynecol.* 22:329 (1979)

107. LEISE EM, GRAY F y WARD MK: "leukocyte lactate dehydrogenase changes as an indicator of infection prior to onset of symptoms". *J. Bacteriol.* 96:154 (1968)
108. LIGGINS GC y HOWIE RN: "A controlled trial of antepartum glucocorticoid treatment for prevention of the respiratory distress syndrome in premature infants". *Pediatrics* 50:515 (1972)
109. LITTER M: "Quimioterapia. Antibióticos de espectro reducido" en compendio de Farmacología, 2ª Ed. Editorial El Ateneo, Buenos Aires, pp 523 (1975)
110. LUNGUIST F, THORSTEINSSON T Y BUSS O: "Purification and properties of some enzymes in human seminal plasma". *Biochem J.* 59:69 (1955)
111. Mc CORMACK W y TAYLOR-ROBINSON D: "The genital mycoplasmas" en "Sexually transmitted diseases" Holmes KK, Mardh Pa y cols. |
Mc Graw-Hill Book Company, New York (1984)
112. Mc VICAR: "Chorioamnionitis". *Clin.Obstet.Gynecol.* 13: 272 |
(1970)
113. MASTERS WH y JOHNSON VE: "Respuesta sexual humana". Ed. In
ter-médica, Buenos Aires (1976)

114. MATHEWS R, AIKAT M y AIKAT BK: "The normal placenta: a histological and histometric study". Indian Journal of Pathology and Bacteriology 16:35 (1973)
115. MEUDT R: "Investigaciones sobre el mecanismo de la rotura de la bolsa de las aguas". Am.J.Obstet.Gynecol. 99:562 (1967)
116. MEYER MB y TONASCIA JA: "Maternal smoking, pregnancy complications and perinatal mortality". Am.J.Obstet.Gynecol. 128:494 (1977)
117. MILLA A, ACIEN P, GARCIA-DIEZ JM y cols.: "Valor de distintos parámetros como signos precoces de infección en la rotura prematura de membranas pretérmino". Rev.Esp.Obst. y Gin. 44: 615 (1985)
118. MILLER J, MICHEL J, BERCOVICI B y cols.: "Studies on the antimicrobial activity of amniotic fluid". Am.J.Obstet.Gynecol.125 212 (1976)
119. MILLER J, PUPKIN M y GALE B: "Bacterial colonization of amniotic fluid from intact membranes". Am.J.Obstet.Gynecol.136: 796 (1980)
120. MILLS JL, HARLAP S y HARLEY EE: "Should coitus in late pregnancy be discouraged? Lancet 2:136 (1981)

121. MITRANI MR, SHARF M y POLISHUK Z: "Value of cerclage in the treatment of cervical incompetence". Hosp. Haifa-Hasemah 72 (1): 24 (1967)

122. MOE N: "Deposits of fibrin and plasma proteins in the normal human placenta: an immunofluorescence study". Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica 76:74 (1969)

123. MOGHISI KS: "Sperm migration through cervical mucus", en "Pathways of conception. The role of the cervix and oviduct in Reproduction". Eds. AI.Shermann. Charles Thomas. Springfield , pp 214 (1971)

124. MORRISON JC, WHYBREW WD, BUCOVAZ ET y cols.: "Injection of corticosteroids into mother to prevent neonatal respiratory distress syndrome". Am.J.Obstet.Gynecol. 131:358 (1978)

125. MOSKALEWSKI S, PTAK W y CZARNIK Z: "Demonstration of cells with IgG receptor in human placenta". Biology of the neonate 26: 268 (1975)

126. MULLER G, PHILIPPE E, LEFAKIS SP y cols.: "Les lésions placentaires de la gestose:étude anatomo-clinique". Gynecologie et Obstétrique 70:309 (1971)

127. NAEYE RL y BLANC WA: "Relations of poverty and race to ante

- natal infections". N.Engl.J.Med. 283:555 (1970)
128. NAEYE RL y BLANC WA: "Fetal and maternal features of antenatal bacterial infections". J. Pediatr. 79:733 (1971)
129. NAEYE RL: "Safety of coitus in pregnancy". Lancet 2:686 (1981)
130. NAEYE RL: "Factors that predispose to premature rupture of the fetal membranes". Obstet.Gynecol. 60:93 (1982)
131. NAEYE RL y ROSS S: "Coitus and chorioamnionitis: a prospective study". Early Hum. Dev. 6:91 (1982)
132. NAEYE RL y ROSS S: "Síndrome de infección del líquido amniótico". Ginecol.Obstet.(Temas Actuales) 3:570 (1982)
133. NAEYE RL, MAISELS J, LORENZ R y cols.: "The clinical significance of placental villous edema". Pediatrics 71 (4):538 (1983)
134. NAVARRETE L, SABATEL RM^a, CLAVERO PA y cols.: "Estudio comparativo entre rotura prematura y precoz en las membranas ovulares y su incidencia sobre el estado materno-fetal". Toko-Gin. Práct. 41, 11-12 : 505 (1982)

135. NEHEMIAH JL, SCHNITIZER Z , SCHULMAN H Y cols. : "Human chorionic trophoblasts decidual cells and macrophages: a histochemical and electron microscopic study". Am.J.Obstet.Gynecol. 140 : 261 (1981)

136. OGITA S, IMANAKA M; MATSUMOTO M y cols.: "Premature rupture of the membranes managed with a new cervical catheter". Lancet 1 8390 (1330-1331) (1984)

137. OLDING L: "The possibility of materno-fetal transfer of lymphocytes in man". Acta Paediatr.Scand 61:73 (1972)

138. OLDING L, MURGITA G y WIGZELL H: "Mitogen-stimulated lymphoid cells from human newborn suppress the proliferation of maternal lymphocytes across a cell-impermeable membrane". The Journal of Immunology 119 (3) (1977)

139. OLDSTONE M y TISLOU A: "Active thymus derived suppressor lymphocytes in human cord blood". Nature 269 (22):333 (1977)

140. OSKI FA y NAIMAN JL: "Hematologic problems in the newborn" | WB Saunders Company, Philadelphia (1972)

141. OZANNE P, LINDERKAMP O , MILLER FC y cols.: "Erythrocyte aggregation during normal pregnancy". Am. J.Obste.Gynecol. 147:576 | (1983)

142. PANIGEL M: "Anatomy and Morphology", en "The human placenta Clin.Obstet.Gynecol. 13:421 (1986)

143. PANKUCH GA, APPELBAUM PC, LORENZ RP y cols.: "Placental microbiology and histology and the pathogenesis of chorioamnionitis". Obstet.Gynecol. 64:802 (1984)

144. PAPAGEORGIU AN, DESGRANGES MF, MASSON M y cols.: "The antenatal use of bethametasone in the prevention of respiratory distress syndrome. A controlled double-blind study". Pediatrics 63: 73 (1979)

145. PEARSON DS y HOLLANDER DH
Nature 230:52 (1971)

146. PERKINS RP: "Sexual behavior and response in relation to complications of pregnancy". Am.J.Obstet.Gynecol. 134:498 (1979)

147. PERKINS RP: "Sexuality during pregnancy". Clin.Obstet.Gynecol. 27:3 (1984)

148. PHILIPPE E: "Les inflammations foeto-placentaires", en "Pathologie foeto-placentaires", 2ª Ed. Masson (París)pp 187-188

(1986)

149. PISARKI T, BREBOROWICZ H y PRZEBORA LA: "leukocyte infiltration in the placenta and membranes". *Biologica Neonatorum* 5 : 129 (1963)

150. PISARKI T, BREBOROWICZ H, MROZEWSKIA y cols.: "Studies of a frozen umbilical cord in evaluating intrauterine infections" *Bulletin Societé des Amis des Sciences et des lettres de Poznan* 16: 129 (1967)

151. POWERS DW y AYOUB DW: "Leukocyte lactate dehydrogenase in bacterial meningitis". *Pediatrics* 54:27 (1974)

152. PRITCHARD JA, Mc DONALD PC y GANT N: "Williams" *Obstetricia Salvat Ed.* pp.187 (1986)

153. PRYSES- DAVIES J, BEAZLEY JM y LEACH G: "A study of placental size and chorioamnionitis in a consecutive series of hospital deliveries". *Journal of Obstetrics and Gynecology of the Commonwealth* 80:246 (1973)

154. PUGH WE y FERNANDEZ FL: "Coitus in late pregnancy". *Obstet. Gynecol.* 2:637 (1953)

155. RAMOS DJ, DUEÑAS JL, ALBERT A y cols.: "Sexualidad y embara

- zo. Efectos adversos de la sexualidad durante el embarazo. Consejo sexual en la consulta prenatal. Revista Iberoamericana de Fertilidad 15:52 (1986)
156. RAKOFF AE, FEO LG y GOLDSTEIN L: "The biological characteristics of the normal vagina". Am.J.Obstet.Gynecol. 47:467 (1944)
157. ROYSTON DB y GEOGHEGAN F: "Amniotic fluid infection with intact membranes in relation to stillborns". Obstet.Gynecol. 65 : 745 (1985)
158. REDLINE RW y ABRAMOWSKY CR: "Clinical and pathologic aspects of recurrent placental villitis". Human Pathology 16:727 (1985)
159. REDMAN CWG: "Immunology of the placenta" Clin.Obstet.Gynecol 13:469 (1986)
160. REYBURN WR y WILLSON EA: "Coital activity and premature delivery".Am.J.Obstet.Gynecol. 137:972 (1980)
161. RHODES K, MARKHAM RL, MAXWELL PM y cols.: "Immunoglobulins and the X-chromosome". Br.Med.J. 3:439 (1969)
162. RICHARDSON CJ, POMERANCE JJ, CUNNINGHAM MD y cols.: "Acceleration of fetal lung maturation following prolonged ruptures of

- membranes". Am.J.Obstet.Gynecol. 118:1115 (1974)
163. RODRIGUEZ-FERNANDEZ AM, GARCIA M y GONGALEZ G: "Estudio clínico-epidemiológico de las complicaciones del cerclaje cervical en pacientes con insuficiencia ístmico-cervical". Toko-Gin. Práct 45 (9):515 (1986)
164. ROLSCHAU J: "The significance of diferents forms of placentitis" Acta Obstet.Gynecol.Scand. 72 (Suppl.):5 (1978)
165. ROMEM Y y ARTAL R: "C-reactive protein as a predictor for chorioamnionitis in cases of premature rupture of the membranes" Am.j.Obstet.Gynecol. 150:546 (1984)
166. ROSS SM, NAEYE RL, DU PLEISIS JP y cols.: "The genesis of amniotic fluid infection", en "Perinatal infections".CIBA Found. Symposium (1977)
167. RUKAVINA D y JONIK S: "The effects of the transplacental traffic of lymphocytes" Period.Biol.78 (Suppl.) (1976)
168. RUSSEL P: "Inflammatory lesions of the human palcenta. III. The histopathology of villitis of unknown aetiology. Placenta 1: 227 (1980)
169. SARRUT S,:"Intérêt du frottis amniotique dans de dépitage d'infection néo-natale". Méd.Infant 81:525 (1974)

170. SARRUT S: "La listériose materno-foetale.I. Les lesions |
placentaires a propos de 75 observations". Rev.Franc.Gynecol Obs
tet. 70:711 (1975)
171. SAURAMO H: "Histological and histochemical studies of the |
placenta and fetal membranes in pathological obstetrics". Anna-|
les Chirurgiae et Gynaecologiae Fenniae 50:179 (1961)
172. SCHAFFER AJ y AVERY MF: "Enfermedades del Recién Nacido". |
Salvat Ed. Barcelona (1974)
173. SCHLIEVERT P, JOHNSON W y GALASK RP: "Bacterial growth inhi
bition by amniotic fluid". Am.J.Obstet.Gynecol. 122:809 (1975)
174. SCHRODER J y de la CHAPELLE A: "Fetal lymphocytes in the ma
ternal blood". Blood 39 (2)(1972)
175. SCHRODER J y ABDERSSON L: "Lack of permeability of mouse |
placenta to maternal and fetal cells". Nature 253:453 (1975)
176. SCOTT JM y HERDERSON A: "Acute villous inflammation in the|
placenta". Journal of clinical Pathology 25:872 (1972)
- 177.SELLER MJ: "Lack of porosity of the mouse placenta to mater-
nal cells". Nature 225:1254 (1970)

178. SEN DK y LANGLEY FA: "Villous basement membrane thickening | and fibrinoid necrosis in normal and abnormal placentas". Am.J. | Obstet.Gynecol. 118:276 (1974)

179. SIDDALL RS: "The significance of inflammation of the umbili | cal cord". Am.J.Obstet.Gynecol.14:192 (1927)

180. SIDDALL RS:" Inflammation of the amnion and chorion". Am.J. | Obstet.Gynecol. 15:828 (1928)

181. SHURIN PA: "Chorioamnionitis and colonization of the new- | born infant with genital mycoplasmas". N.Engl.J.Med. 293:5 | (1975)

182. SOLBERG DA, BUTLER J y WAGNER NN: "Sexual behavior during | pregnancy". N.Engl.J.Med. 288:1098 (1973)

183. SORBA M: "Ethude de Pathologie Foetale et Neonatale". Laus- | sanne. Rouge et Cie. (1948)

184. SUTTON L, MASON DY y REDMAN CW: "HLA-DR positive cells in | the human placenta". Immunology 49:103 (1983)

185. SVENSSON L, INGEMARSSON I y PER-ANDERS M: "Chorioamnionitis | and the aislation of microorganism from the placenta". Obstet. |

Gynecol. 67:403 (1986)

186. TAEUSCH HW, FRIGOLETTO F, KITZMILLER J y cols.: "Risk of respiratory distress syndrome after prenatal dexamethasone treatment". Pediatrics 63:64 (1979)

187. TAFARI E: "Mycoplasma T-strains and perinatal deaths". Lancet 1:108 (1976)

188. TAYLOR DJ, PHILLIPS P y LIND T: "Puerperal haematological indices". Br.J.Obstet.Gynecol. 88:601 (1981)

189. TEASDALE F: "Functional significance of the zonal morphologic differences in the normal human placenta". Am.J.Obstet.Gynecol 130: 773 (1978)

190. TUFFREY M, BISHUN NP y BARNES RD: "Porosity in the mouse placenta to maternal cells". Nature 221 (15) (1969)

191. TUFFREY M, BISHUN NP y BARNES RD: "Porosity of the placenta to maternal cells in normally deived mice". Nature 224 (15):701 (1969)

192. URANGA IMAZ FA, URANGA IMAZ FA (h): "Obstetricia práctica". 3ª Ed. Intermédica pp.133 (1981)

193. VAN DER BERG BJ: "Coitus and amniotic fluid infections". N. Engl.J.Med. 302:632 (1980)
194. WAGNER NN, BUTLER JC y SANDERS JP: "Prematurity and orgasm| coitus during pregnancy: data of a small data sample". Fertility| and sterility 27:911 (1976)
195. WALKNOWSKA J y CONTE FA: " "Practical and theoretical impli| cations of fetal, maternal lymphocyte transfer". Lancet June 7 : 1119 (1969)
196. WASHBURN y cols.: "Sex differences in suceptibility to in-| fections". Pediatrics 35:57 (1965)
197. WILKIN P: "Patholologie du Placenta". París. Masson et Cie. (1965)
198. WILKINSON PC: "Chemotaxis and inlammation". Edimburgh. Chur| chill-Livingston (1974)
199. WILLSON MG Y ARMSTRONG L: "Inflammation of the umbilical | cord and neonatal illness". Am.J.Obstet.Gynecol. 90:843 (1964)
200. ZHANG J, KRAUS FT y AQUINO TI: "Chorioamnionitis:A comparati| ve histologic, bacteriologic and clinical study". Int.J.Gynecol.

201. ZIMMERMAN A y SCHNICKED R: "Fluorescent bodies in maternal |
circulation". Lancet, June 19:1305 (1971)

Reunido el Tribunal integrado por los señores
en el día de la fecha, para juzgar la Tesis Doctoral de
D. ANTONIO JIMENEZ CARABALLO
titulada ESTUDIO HISTOQUIMICO DE LAS CORIAMMONIAS
MEDIANTE LA TECNICA DE LA DAB- C_2O

acordó otorgarle la calificación de APTO CUM LAUDE

Sevilla, 8 de JULIO 1988

El Vocal,

El Vocal,

El Vocal,

El Presidente

El Secretario,

El Doctorado,

The image shows three columns of handwritten signatures. The first column has two signatures, the second has two, and the third has one. The signatures are written in dark ink and are somewhat stylized and overlapping.