

# APRECIEREA UNUI MARCHER NOU A INFECȚIEI HERPETICE CONGENITALE PRIN DETERMINAREA LA EXAMENUL HISTOLOGIC A PLACENTEI A CELULELOR POLINUCLEATE UNNA

Silvia Agop, Olga Cernetchi, Virgil Popovici

Catedra Obstetrică și Ginecologie FECMF "Nicolae Testemițanu"

## Summary

### *The assessing of a new marker in congenital herpes infection by determining the Unna polynuclear cells during placental examination*

It is very hard to diagnose the congenital herpes infection because till our days we do not have any methods which could help in differentiating the maternal Ac from the fetal ones, and the polymerase chain reaction for the viral DNA sequences is very expensive, inaccessible and it requires serological, urinal and Cerebrospinal fluid (CSF) frequent repetitions. This was a prospective study performed on a group of 140 placentas, divided into the 1st group of study with a number of 70 pregnant women who were infected with genital herpes during their gestation period, and the 2nd group which had a number of 70 healthy pregnant women. During this study there was carried a histological examination of the placenta and were found the Unna polynuclear cells, which are specific just for the Herpes simplex virus and they serve as markers in the congenital herpes infection.

## Rezumat

Infecția herpetică congenitală este dificil de diagnosticat, deoarece până la moment nu există metode de a diferenția Ac materni de cei fetalii, iar reacția de polimerizare în lanț pentru aprecierea fragmentelor de ADN viral este costisitoare, neaccesibilă și necesită repetări frecvente atât serologice, urinare și a lichidului cefalorahidian. Studiul efectuat a fost de tip prospectiv pe un lot de 140 de placentes, divizat în lotul I de studiu ce a cuprins 70 de gravide care au suportat herpes genital în timpul perioadei de gestație și lotul II de control alcătuit din 70 gravide sănătoase. În cadrul studiului s-a efectuat examenul histologic a placentei și s-au depistat celulele polinucleate Unna, specifice doar pentru virusul herpes simplex și servesc ca marcheri a infecției herpetice congenitale.

## Actualitatea

Infecția herpetică reprezintă o problemă acută a obstetricii și perinatologiei, condiționată de rolul VHS în infectarea fătului și nou-născutului, care ulterior se manifestă prin probleme neurologice, somatice și endocrine la noi – născuți, sugari și copii de vârstă preșcolară [2].

Familia Herpetoviridae inclusiv VHS, ocupă locul doi după teratogenitate, pe primul fiind virusul rubeolei [2].

Rata transmiterii materno-fetale a HVS de la mama cu infecție herpetică primară și recurentă în sarcină este de 1,4-32% [1,2]. Procentul nou-născuților cu Ac la HVS variază de la 40-90% în dependență de cantitatea Ac la mamă care trec bariera placentară. Cantitatea Ac se micșorează în primele luni după naștere, dar la vârsta de la 6 luni până la un an titrul scade brusc [1,3].

În majoritatea cazurilor, fătul este infectat în timpul viremiilor, prin pasajul transplacentar al HVS sau prin continuitate pe cale ascendentă de la secrețiile cervicale. Transmiterea materno-fetală a HVS se poate produce pe tot parcursul perioadei de gestație. Peste 2-3 săptămâni de la infectare va urma viremia fetală, apoi viruria și viramnia. Consecințe mai grave va avea infectarea în prima jumătate a sarcinii, cu implicarea sistemului nervos central al fătului, ceea ce se va manifesta prin retard mintal, tetraplegie spastică și dereglări oftalmice [1,4].

Infectarea perinatală cu HVS se realizează în timpul nașterii prin secreții cervicale și postpartum prin laptele matern și are consecințe negative asupra dezvoltării neuropsihice

ulterioară a copiilor [4,6]. Infectarea fătului mai frecvent se înregistrează în infecție herpetică genitală cronică cu evoluție atipică și asimptomatică [2,6].

Infecția herpetică intrauterină după Cudașov H. I. (1994), este una din cauzele ce duc la mortalitate și morbiditate perinatală, invalidizare în rezultatul paraliziei cerebrale infantile și epilepsiei.

Datorită tropismului VHS față de țesutul nervos, conform autorilor A.F. Puhner, V. I. Cozlova (2003), infectarea fătului se poate solda cu apariția de: hidrocefalie, microcefalie, dilatare de ventricole și atrofia substanței cenușii.

Herpesul genital poate condiționa întreruperea intempestivă a sarcinii, apariția anomaliilor de dezvoltare și decurge malign pe fondul stării de imunodeficit fiziologic a nou-născutului, achiziționând forme severe a bolii ce au ca final decesul sau invalidizarea fătului [2,6].

Infecția ascendentă din colul uterin se asociază cu reproducerea și acumularea virusului în lichidul amniotic și se manifestă prin polihidramnioză, retard de creștere intrauterină, sindrom edematic, prematuritate, însă afectarea fătului poartă un caracter mai slab pronunțat față de infectarea transplacentară [2,5].

Formele clinice a infecției herpetice la făt sunt: localizată tegumentară, se întâlnește la noi-născuți în 0,5%, localizată cu afectarea SNC care se manifestă prin - encefalită, ventriculomegalie, hidrocefalie, chisturi cerebrale, microcefalie, atrofia substanței cenușii, glioză, incidența este de 35%, letalitatea pe fond de tratament este 25%, cu tratament 15% și diseminată manifestată prin sepsis – letalitatea fără tratament este 90%, cu tratament 57% [2,3].

Diagnosticul clinic al infecției herpetice la copii impune colectarea minuțioasă a anamnezelor bolii și evoluția sarcinii prin aprecierea frecvenței recidivelor herpetice, examenul de laborator a urinei, sângelui și salivei copilului prin PCR și IgM, în consiliu cu pediatrul, infecționistul și neurologul [6].

Cercetările histologice a placentelor colectate de la gravidele cu infecție herpetică, au permis de a determina modificări inflamatorii ca: deciduita, placentita, amnionita și vilozita [3,4].

În pofida informațiilor prezentate anterior, precum că imunitatea maternă preexistentă (Ac antiherpetici) ar reduce substanțial transmiterea transplacentară și severitatea infecției congenitale cu HVS la nou-născuți nu a influențat semnificativ consecințele infecției neonatale [6].

În ultimii ani, unul dintre subiectele cele mai discutate în managementul infecției congenitale cu HVS este descoperirea unor markeri (virusologici, imunologici sau imagistici) cu semnificație pronostică pentru evoluția IH și dezvoltarea sechelelor tardive. Acest lucru ar oferi o serie de avantaje, inclusiv consilierea corespunzătoare a mamei și punerea în aplicare a unor intervenții prompte pentru copii cu risc major de handicap. Pacienții ar putea fi, de asemenea, repartizați în funcție de riscul de sechele neurologice, prioritizându-se tactica de tratament antiviral. Astfel, s-a constatat că unele modificări imunologice, calcinate intracerebrale și ventriculomegalie care pot servi ca markeri pronostici pentru sechele neurologice tardive.

**Scopul studiului** depistarea în placentă prin intermediul examenului histologic, a celulelor polinucleate Unna specifice doar pentru HVS, ce vor servi ca marker a infecției herpetice congenitale.

### **Material și metode**

Studiul de tip prospectiv a fost efectuat pe un lot de 140 de gravide, divizat în două loturi - I de studiu alcătuit din 70 de gravide ce au suportat infecție herpetică pe parcursul perioadei de gestație și lotul II de control a cuprins 70 de gravide sănătoase. După naștere sau colectat anexele fetale ce au fost supuse examenului histologic pentru aprecierea celulelor polinucleate Unna. Studiul s-a realizat în perioada anilor 2009-2011 în cadrul IMSP ICȘDOM și C secția

morfopatologie. Precucrarea statistică a datelor a fost efectuată în programul Microsoft Excel 2000, prin aprecierea testului de semnificație (t-Student) și pragului de semnificație (p).

### Rezultate și discuții

Explorările histopatologice au pus în evidență o gamă largă de modificări din partea componentelor structural-funcționale ale placentelor și anexelor cu implicația acestora în divers raport. În cadrul examinărilor histopatologice uzuale modificări lezionale cu implicații a elementelor corionului vilar, spațiilor interviloase, membranelor deciduale bazale și parietale s-au depistat în ambele loturi, în lotul I în 12 (34,3±8,02%) cazuri, comparativ cu lotul II în 3(4,3±2,42%) cazuri (p<0,05).

Analiza histologică a relevat modificări cu caracter inflamator în placentă în lotul I s-au estimat 10(28,6±5,67%) cazuri și lotul II în 5(14,3±5,92%) cazuri. După localizarea procesului inflamator în țesuturile placentei s-a apreciat deciduită bazală la 16,12±6,22% în subplotul I comparativ cu nici un caz în lotul II (p>0,05). Deciduita parietală a fost depistată în 19,1±6,64% în lotul I, comparativ cu lotul II unde nu a fost depistată (p>0,05). Frecvența velocitei și intervelocitei a fost estimată în 23,5±7,17% în lotul I comparativ cu 8,2±4,64% lotul II, ceea ce confirmă lezarea mai profundă pe cale hematogenă a corionului vilar, (p<0,05).

De asemenea în cadrul cercetării histologice a fost apreciate procese inflamatorii celulare limfocitare estimate în lotul II în 5(14,3±5,92%) cazuri, comparativ cu 13(37,1±8,17%) cazuri în lotul I, aceste manifestări sunt caracteristice pentru un proces inflamator viral, (p<0,05, p<0,001).

Printre cele mai frecvente modificări circulatorii constatate au fost pseudoinfarctele, care s-au apreciat în 20(28,6±5,40%) cazuri în lotul I, comparativ cu 3(4,3±2,42%) cazuri în lotul de control. Altă modificare circulatorie estimată a fost apoplexia zonală cu microdecolări precoce, ce a fost identificată în 19(54,3±8,42%) cazuri în lotul I și doar 1(1,4±1,40%) caz în lotul II. Deasemnea s-au depistat hemoragii și trombi interviloși în vase în 10(28,6±7,64%) cazuri în lotul I și 2(2,9±2,01%) cazuri în lotul II, (p<0,05).

Modificări involutiv-distrofice manifestate prin calcinoză și fibroză micro-macrofocală zonală sau dispersă s-au estimat în 26(18,6±3,29%) cazuri din loturile studiate, din ele pentru lotul I corespund 20(51,9±8,45 cazuri, comparativ cu 6(17,1±6,36%) cazuri în lotul de control (p<0,001).

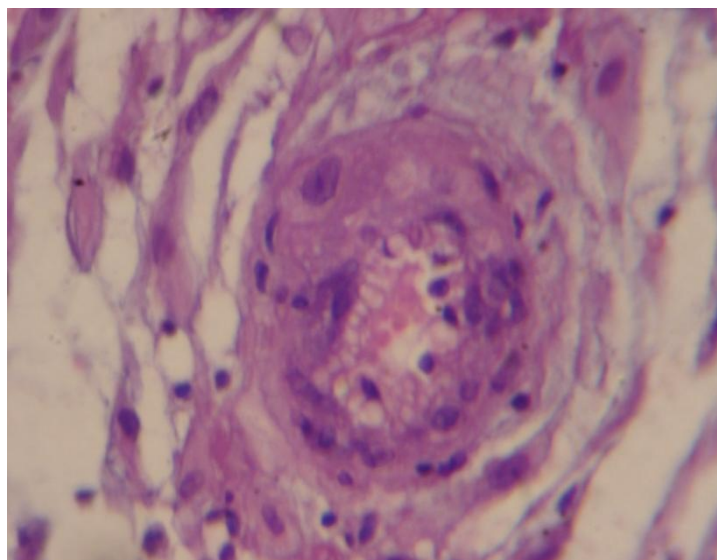


Fig.1. Endovasculite de origine virală în pars decidua bazalis. Proliferarea endoteliului, polimorfism nucleocitoplasmatic tip- gigantocelular (celule Unna). Histopreparat. Colorație hematoxilin-eozină × 400.

Destul de frecvent s-au depistat diverse ectazii vasculare la nivelul corionului vilar, zone cu reducerea spațiilor interviloare, persistarea unor grupuri de vilozități imature cu o ramificație asimetrică a corionului vilar estimate în 28(20,0±3,38%) cazuri, în lotul de studiu, comparativ cu 3(4,3±2,42%) cazuri în lotul de control, ( $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$ ).

Un moment testat în studiile microscopice a fost procesele proliferativ compensatorii manifestate histologic prin proliferarea sincițiului și angiomatoza capilară care s-a apreciat în 9(25,7±7,39%) în lotul I, ( $p > 0,05$ ) și nici un caz în lotul II de control, ( $p > 0,05$ ).

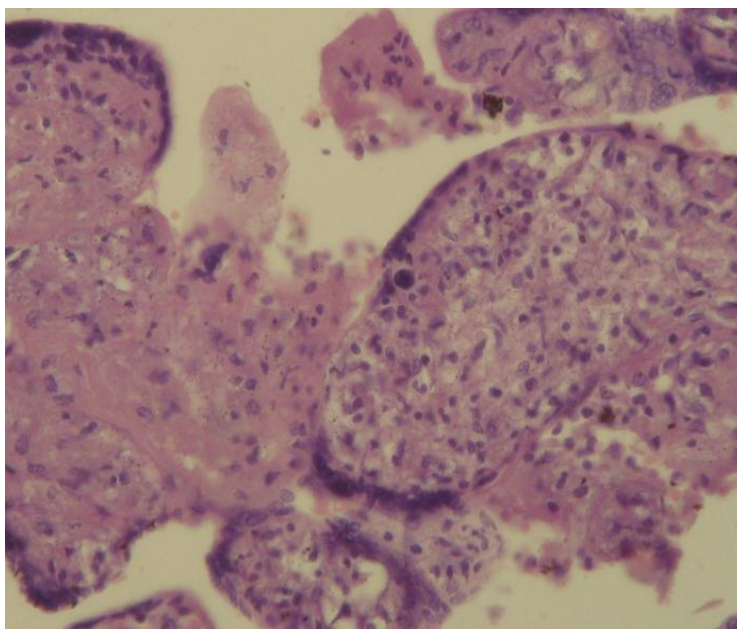


Fig.2. Vilozită infiltrativ-productivă -150. Infiltrat din limfocite, fibroblaste, polimorfism nucleo-citoplasmatic tip-gigantocelular (celule Unna) în zona subepitelială a vilozităților coriale.

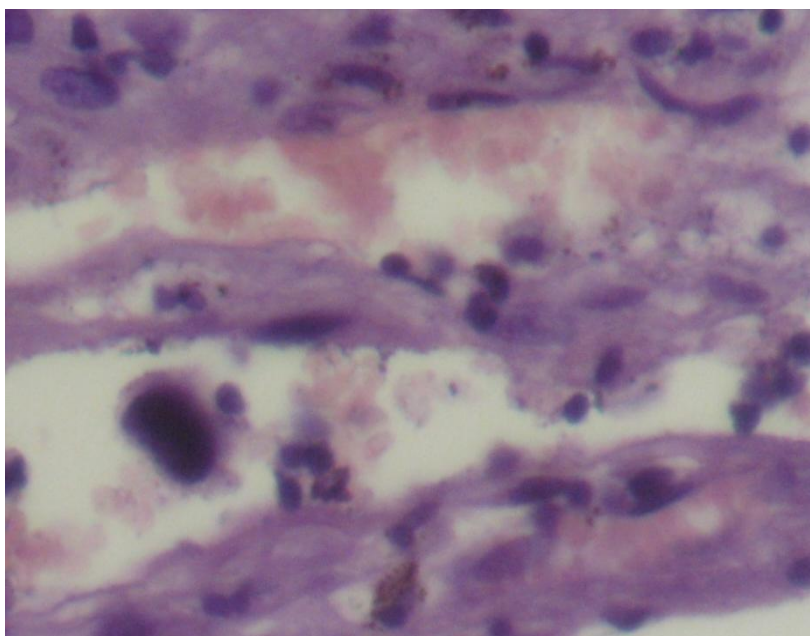


Fig.3. Intervileită, vileită cu neformarea simplaștilor celulari polinucleari (celule Unna). Colorație hematoxin-eozină  $\times 200$ .

Un moment oportun al studiului efectuat a fost aprecierea polimorfismului celular a virusul herpetic. Polimorfismul celular necleo-citoplasmatic tip-gigantocelular este specific doar pentru IH. Acestea reprezintă așa numitele celule polinucleate, după autor Unna. Celulele Unna cel mai frecvent sunt depistate în endoteliocitele vaselor din pars decidua bazalis și reprezintă celule infectate cu HVS în diferite faze de replicare ele devin polinucleate.

Infecția herpetică congenitală este extrem de dificil de diagnosticat deoarece până la moment nu există tehnici de a diferenția Ac materni de Ac fetal, iar PCR este costisitoare, necesită repetări frecvente deoarece perioada de replicare virală herpetică durează în mediu 10 zile și des sunt estimate rezultate fals negative. Aceste celule polinucleate Unna ne servesc ca criteriu în diagnosticul IH congenitale, estimând infectarea hematogenă cu HVS a anexelor fetale. În cadrul studiului celulele Unna au fost apreciate în 12(34,29±8,02%) cazuri în lotul I comparativ cu nici un caz în lotul de control ( $p < 0,001$ ).

Ulterior vor fi prezentate imaginile examenului histologic a placentei ce relatează modificările inflamatorii, involutiv-distrofice, proliferativ-compensatorii și circulatorii, deasemenea celulele polinucleate Unna, marker de diagnostic a IH congenitale.

### **Concluzii**

1. Examenul complex morfopatologic aplicat a stabilit frecvența majoră a leziunilor de origine inflamatorie și discirculatorii de divers grad de activitate cu implicații considerabile ale componentelor structural-arhitectoniale și funcționale ale placentelor ce pledează destul de semnificativ pentru coexistența acestora în caz de IH la mamă.
2. Studiul histologic complex ne-a permis să apreciem celulele polinucleate Unna, specifice doar pentru IH și ne servesc ca marker a IH congenitale.

### **Bibliografie**

1. Ashley R. L. Laboratory techniques in the diagnosis of herpes simplex infection. Genitourin. Med. 1993. vol. 69. 174-183p.
2. Henderson J.L., Weiner C.P. Congenital infection. Curr. Opin. Obstet, Gynecol. 1995. vol. 7, nr. 2. 130-134 p.
3. Hutto C., Arvin A., Jacobs R. et al. Intrauterine herpes simplex virus infections. J. Pediatr. 1987. vol. 110. 97-101p.
4. Hyde S. R., Giacoia G. P. Congenital herpes infection ; placental and umbilical cord findings. Obstet. and Gynec. 1993. nr. 81. 852-855p.
5. Spânu C., Bârcă L., Rusu G. Opțiuni de diagnostic și tratament în infecția herpetică. În: Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Chișinău, 2005, nr. 4. 58-61p.
6. Орловская И. В. Диагностика внутриутробной герпес-вирусной инфекции с церебральными нарушениями. Автореф дис. канд. мед. наук. 1995.