

# Evaluación de los cambios morfológicos, funcionales y estructurales de células del trofoblasto y explantes placentarios humanos asociados con la infección por *Plamsodium falciparum*



CAROLINA LÓPEZ-GUZMÁN; ANA MARÍA GARCÍA; ULRIKE KEMMERLING WEIS & ANA MARIA VASQUEZ CARDONA

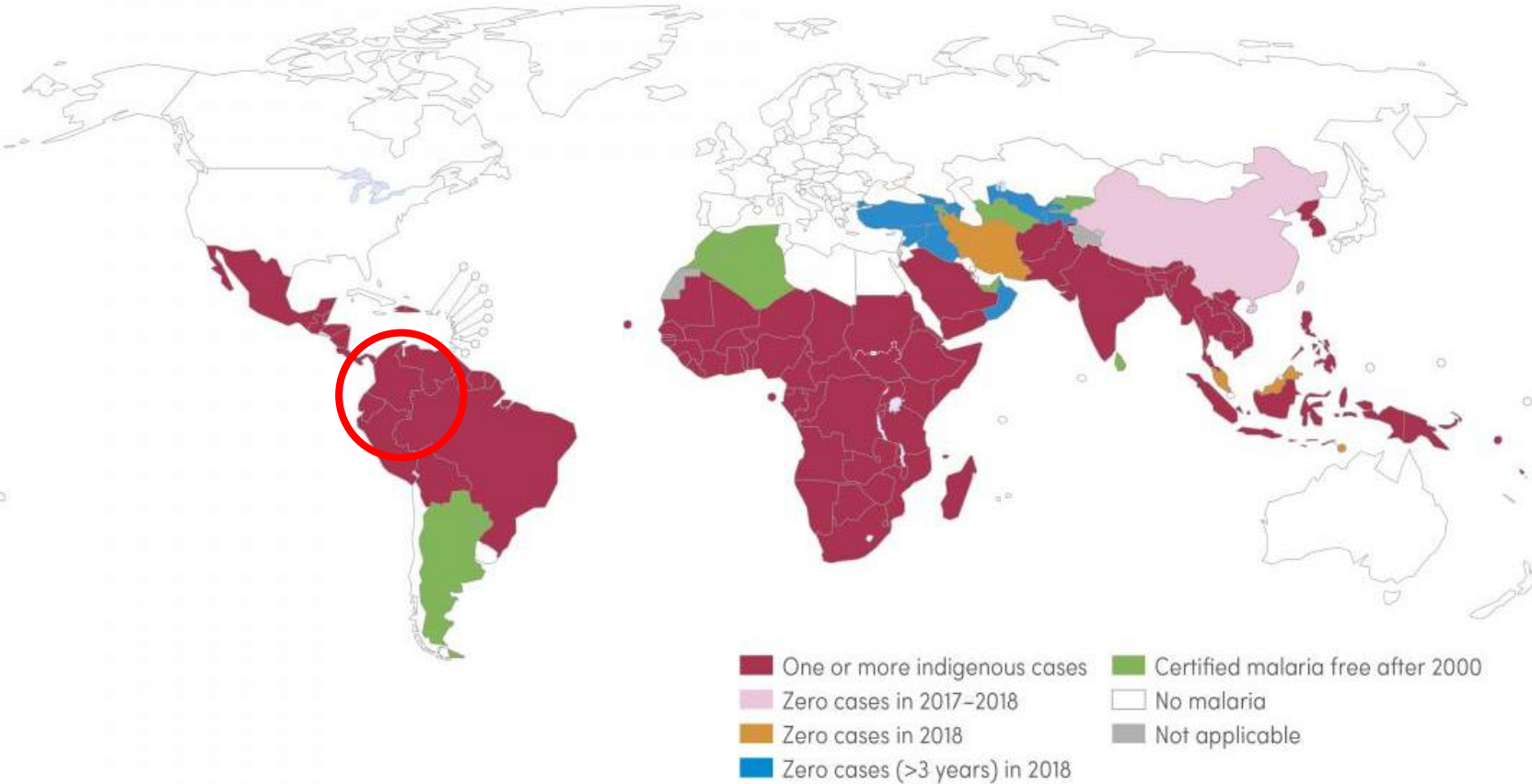


**UNIVERSIDAD  
DE ANTIOQUIA**  
1803

**Estudiante de Doctorado  
Ciencias Básicas Biomédicas  
Universidad de Antioquia  
2024-1**



# Distribución de la malaria



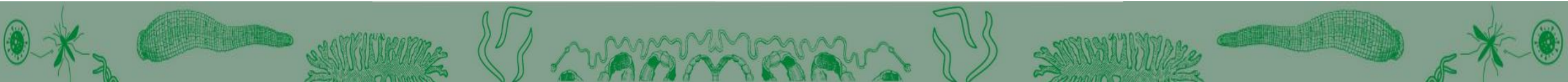
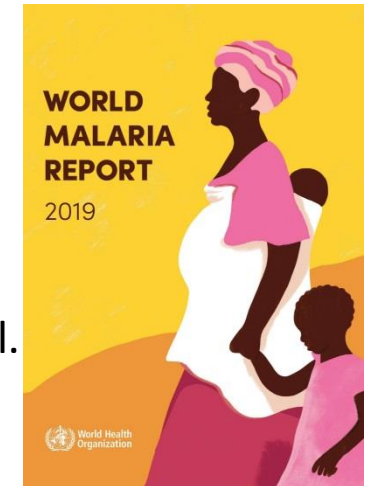
OMS 2023

- >30 Millones de mujeres viven en áreas endémicas de *P. falciparum*.
- Malaria durante el embarazo, 150,000 muertes fetales y 10,000 muertes maternas.

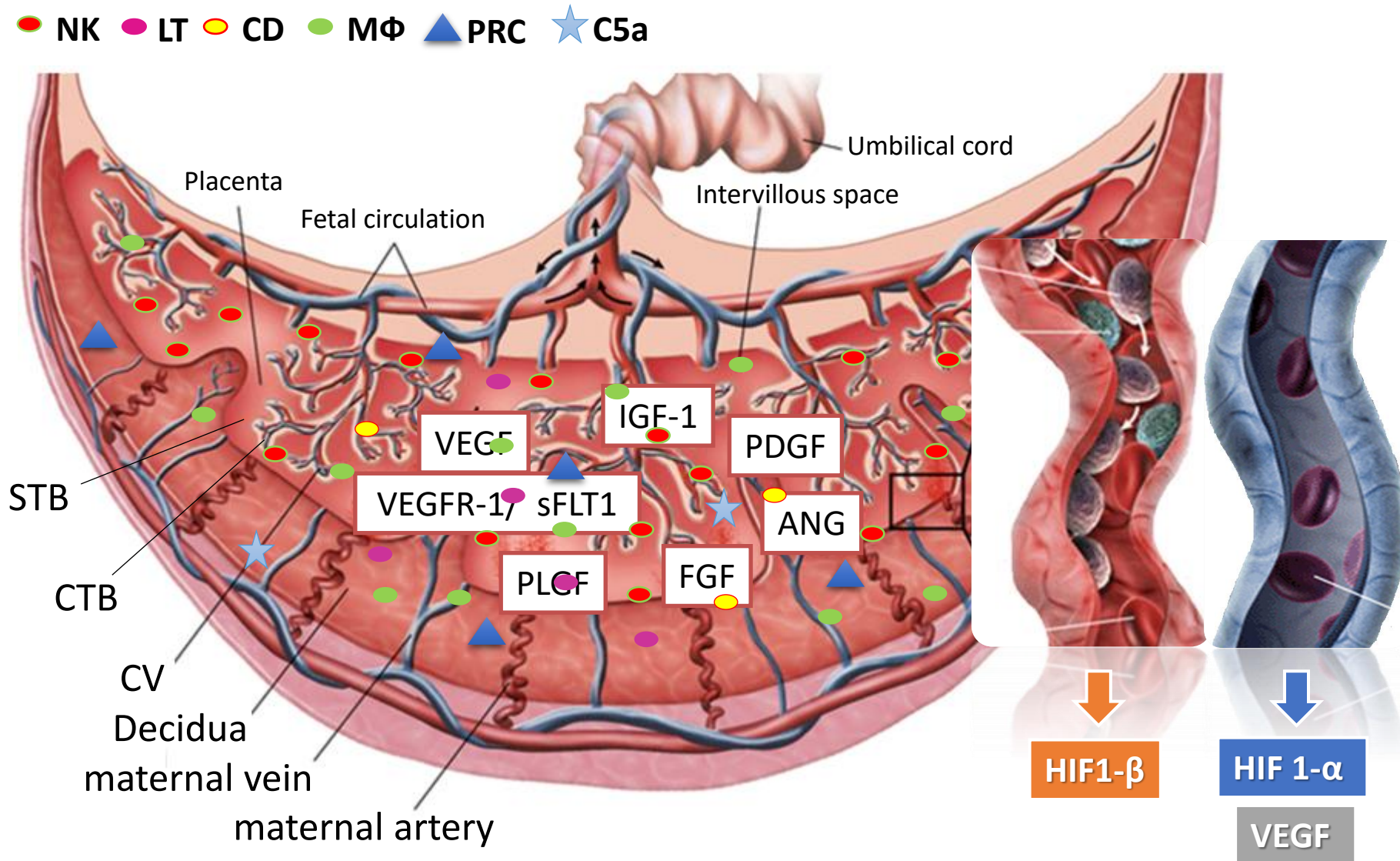
En Colombia, se registraron 61,339 casos de malaria. Los departamentos de Chocó, Nariño, Córdoba y Antioquia representaron el 73% de los casos.

*P. falciparum* es la especie responsable del 90% de las muertes a nivel mundial. Grupos susceptibles: **mujeres embarazadas** y niños menores de 5 años.

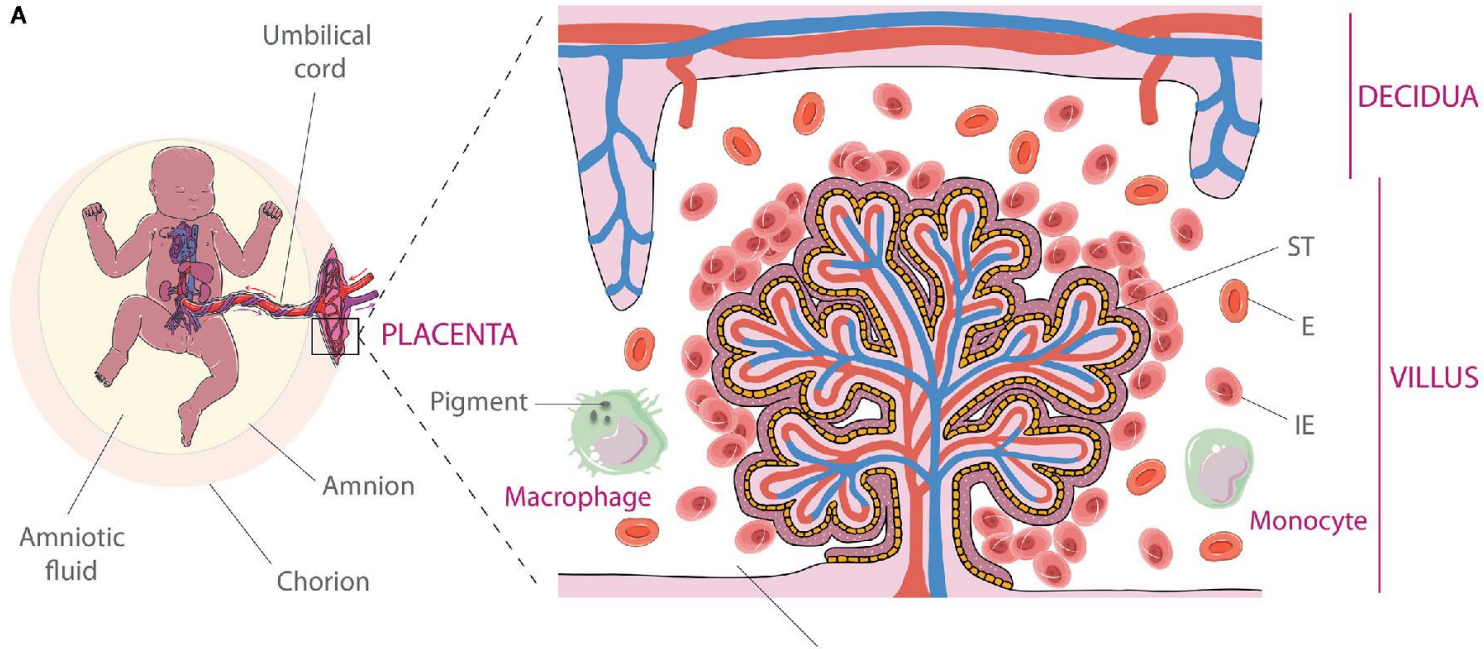
Malaria gestacional, **Malaria placentaria** y Malaria congénita



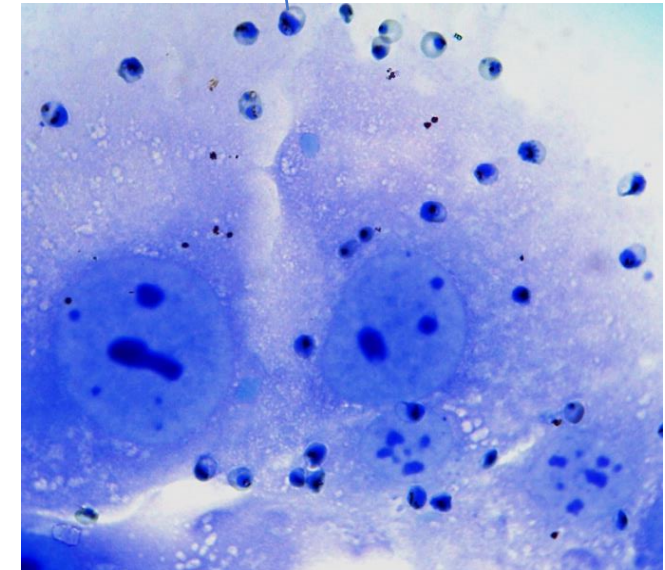
# Desarrollo placentario: embarazo normal



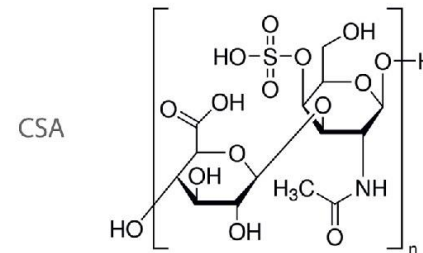
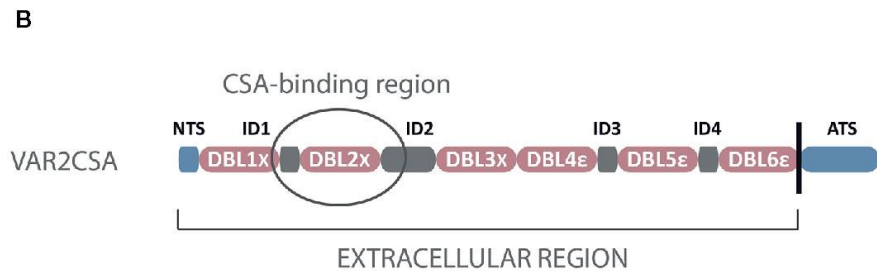
# Consecuencias de la malaria placentaria: Procesos fisiológicos y metabólicos del trofoblasto.



GRP adherentes CSA  
(FCB1CSA)



Vásquez et al 2013



## Objetivo general

Evaluar la integridad del tejido placentario e identificar cambios en la función endocrina, la respuesta inflamatoria y la apoptosis en células y **tejidos** expuestos a *Plasmodium falciparum*.



# Modelos de estudio

Celular

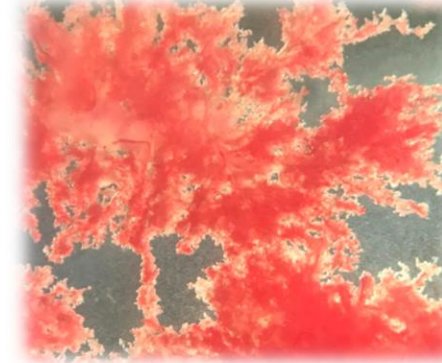


Células BeWo ATCC® CCL-98™

Estímulo químico para inducir CTB → STB

Permite evaluar impacto de factores asociados con MP sobre el STB

Vellosidad placentaria



Estereoscopio recién  
Sembrado sobre matriz: SFB

Regeneración del STB a las 48h-72h

Reflejan variabilidad biológica entre placentas

Indicadores

Morfológico

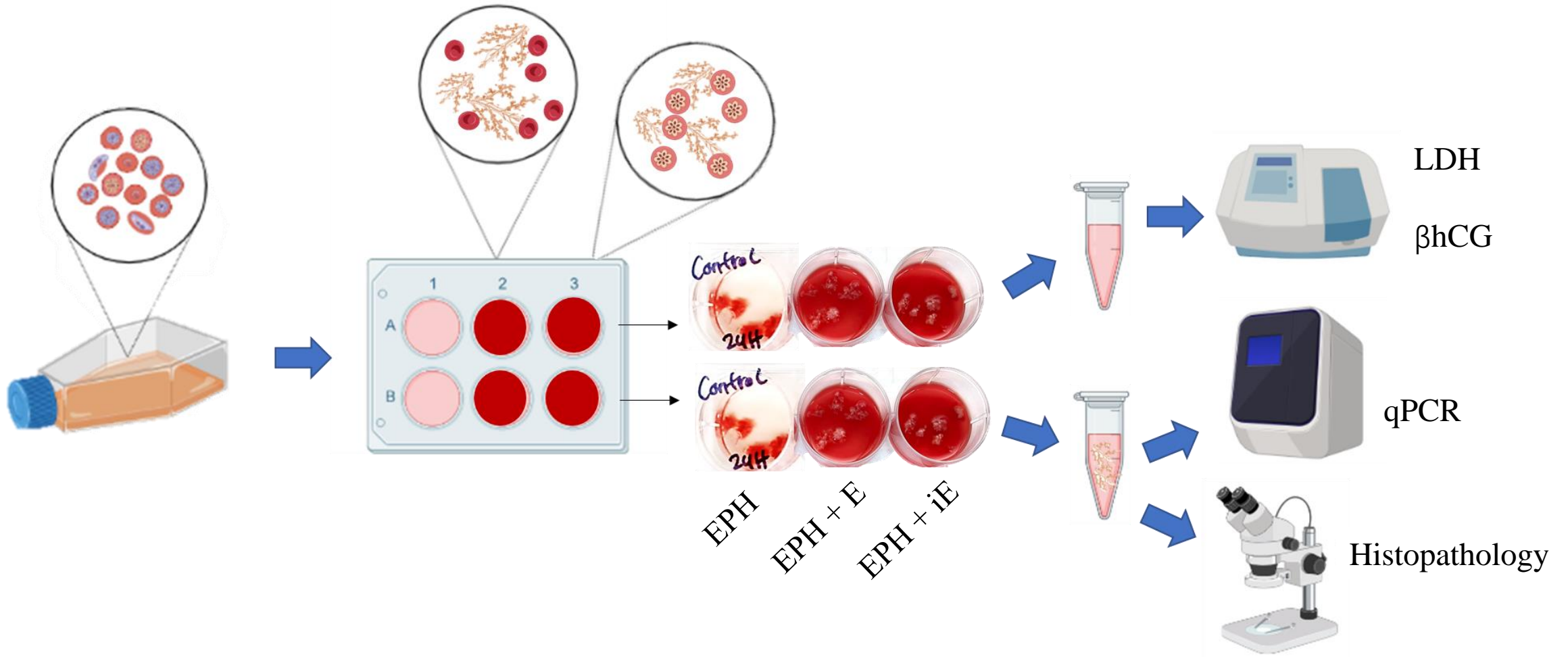
Bioquímico

Estructural

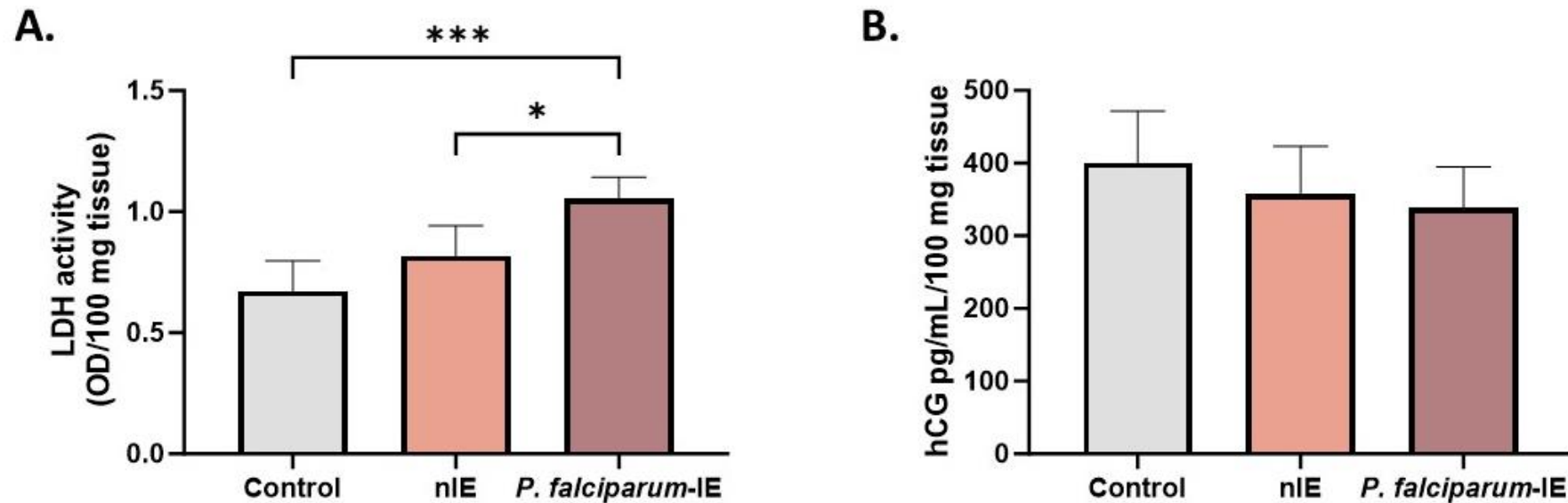
Molecular

¿Cómo evalúo la diferenciación de CTB → STB?

# Metodología: Implementación del cultivo de explante placentario humano (EPH) y *P. falciparum*



# La exposición *ex vivo* a *Plasmodium falciparum* induce un aumento en la actividad de la LDH y una tendencia hacia una disminución en la producción de $\beta$ hCG

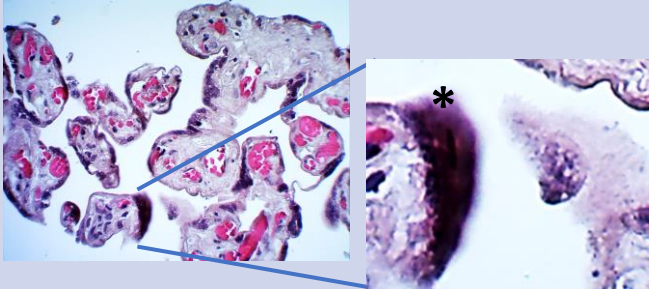
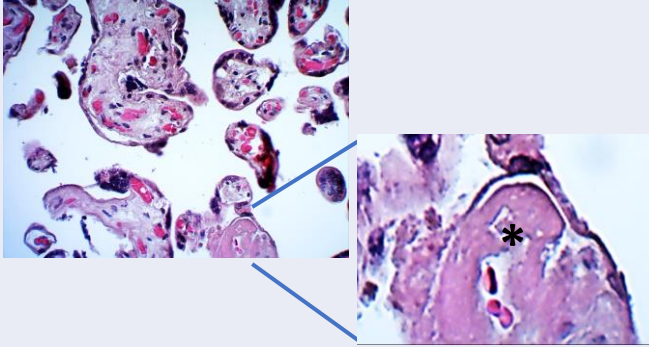
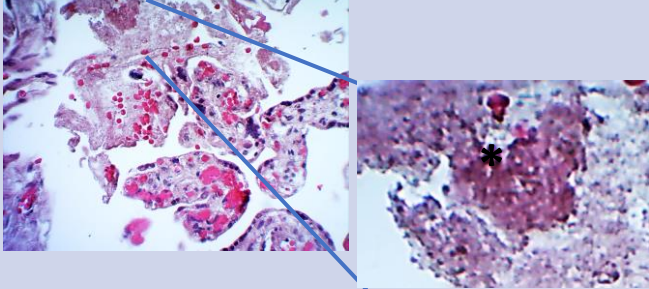
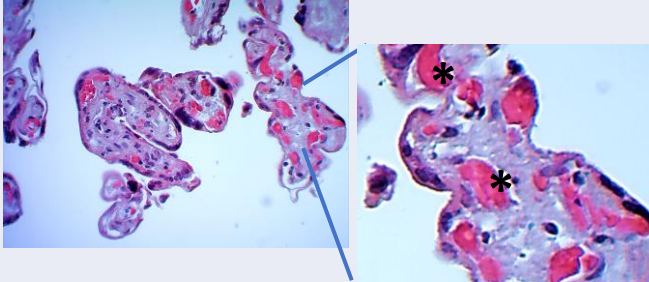


**A.** Actividad de la LDH medida en el sobrenadante del HPE, normalizada por cada 100 mg de tejido, en los grupos de control y tratamiento. **B.** Producción de  $\beta$ hCG medida en el sobrenadante del HPE, normalizada por cada 100 mg de tejido, en los grupos de estudio. Los gráficos de barras representan las medias  $ME \pm SEM$ .  $n=9$ . ANOVA de una vía para medidas repetidas con una prueba de comparaciones múltiples (Tukey).

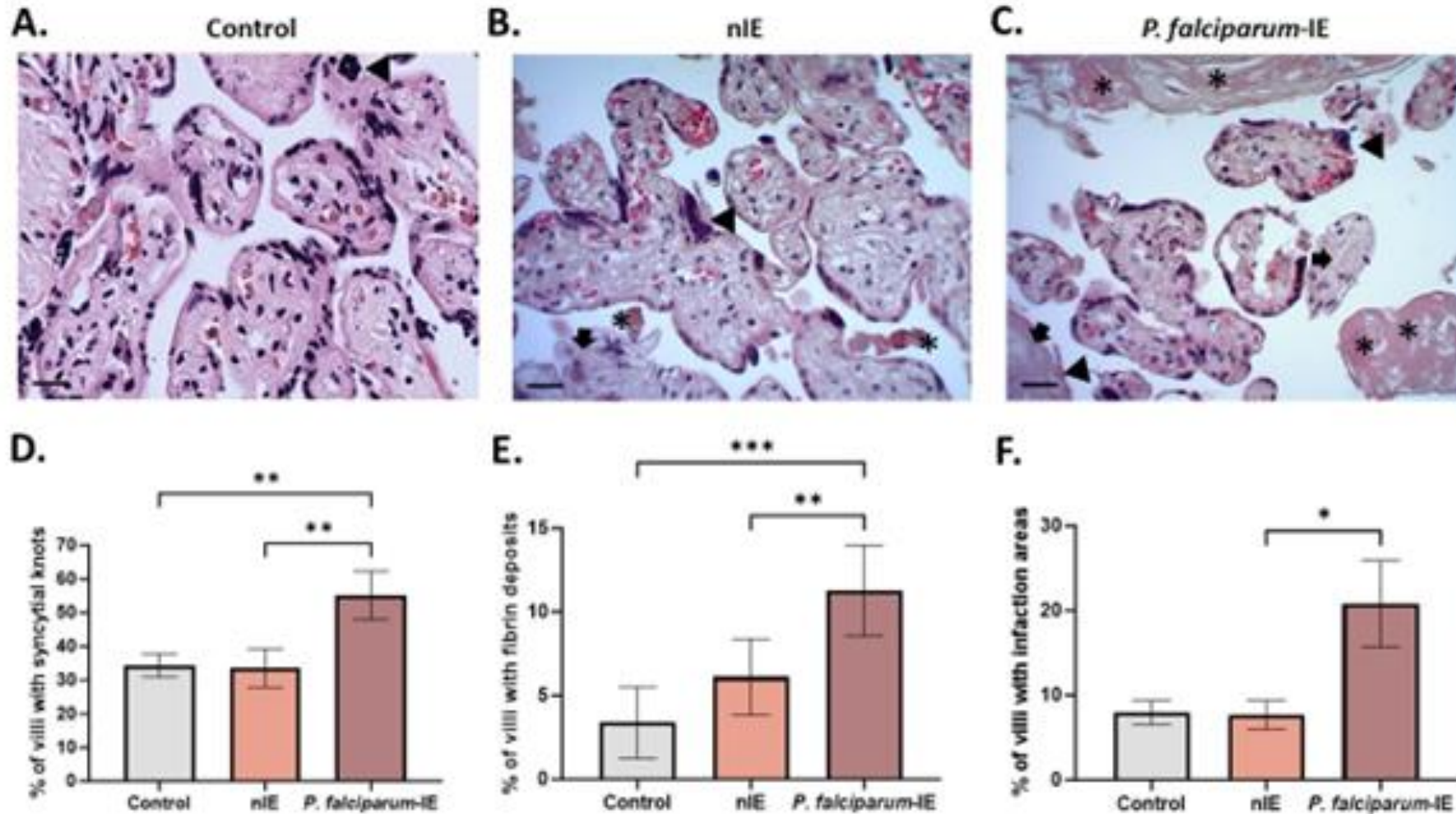


# Evaluación de la integridad de las vellosidades placentarias por histología

Imágenes representativa de corte transversal de explantes placentarios teñidos con HE

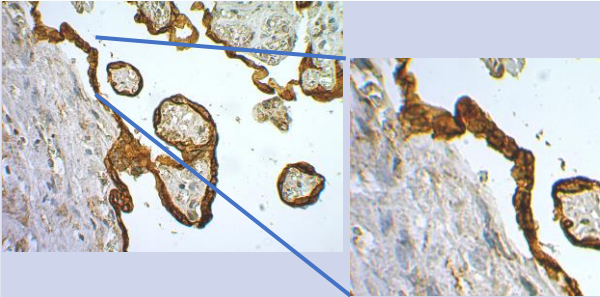
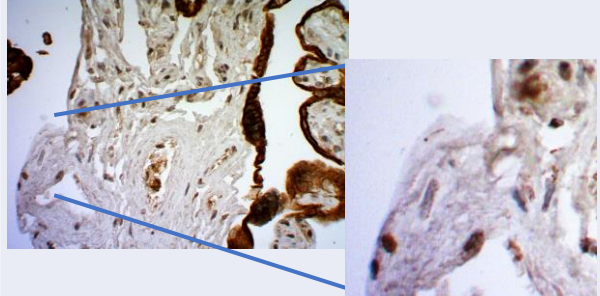
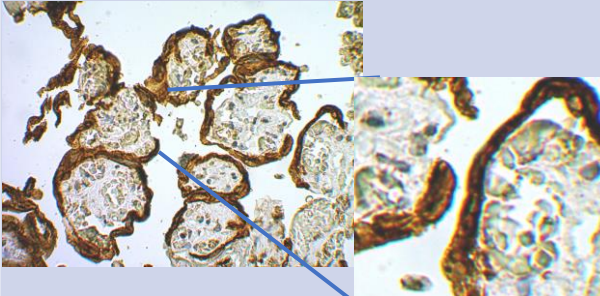
Daño histológico evaluado	Tinción Trofoblasto (HE)
Nudo sincitial	
Depósito de fibrina	
Infarto	
Vasos sanguíneos fetales	

# *P. falciparum* causa daño histológico en HPE expuesto ex vivo



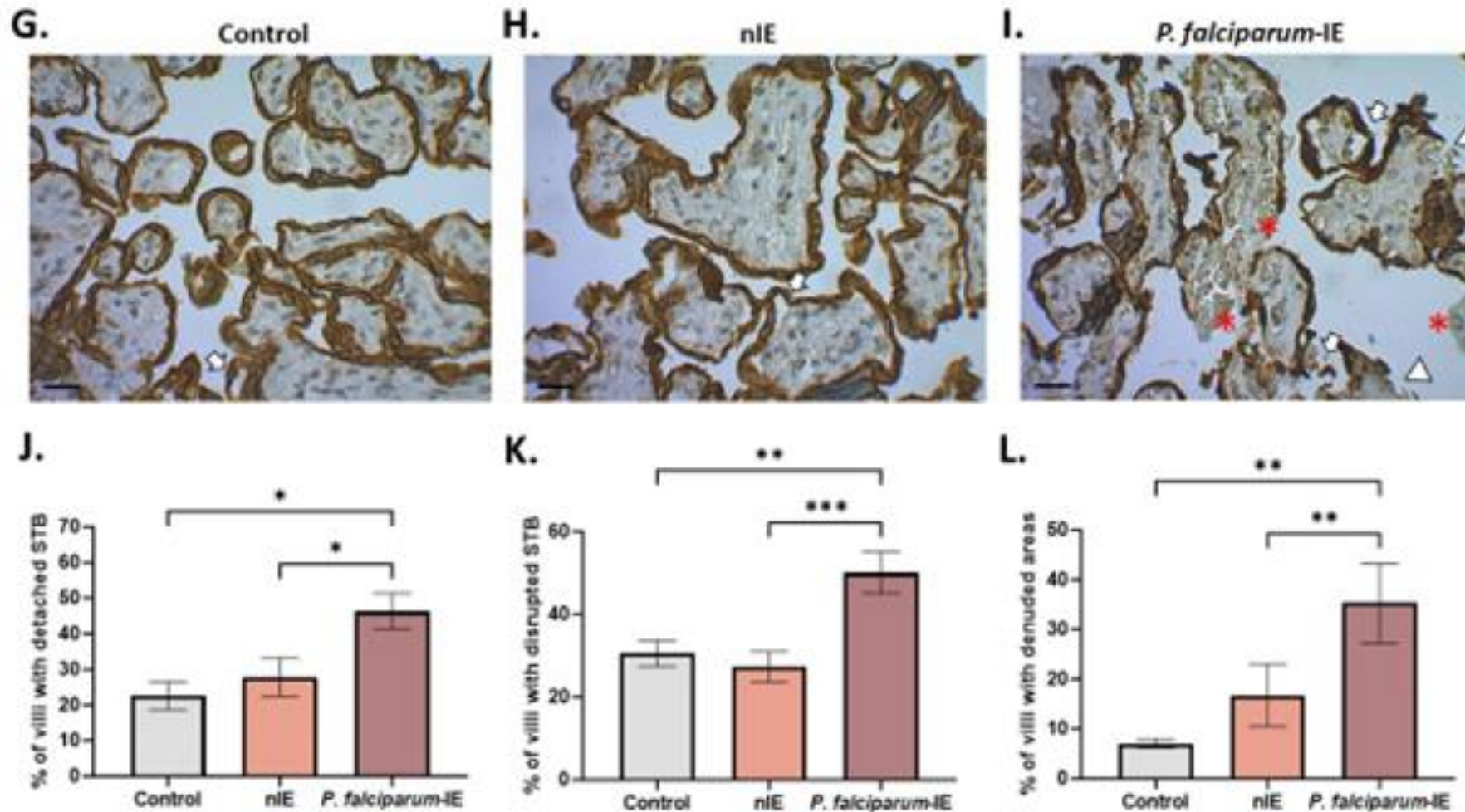
**A-C.** Panel de microfotografías representativas de HPE teñidas con H&E; **D-F.** Panel de análisis estadístico para determinar la frecuencia de los diferentes hallazgos; nudos sincitiales (punta de flecha negra), depósitos de fibrina (flecha negra) e infarto (asterisco negro). ANOVA de una vía a modelo mixto con prueba de comparaciones múltiples (Tukey). Barra de escala: 20  $\mu$ m. Aumento total (400X).

# Evaluación de la barrera del trofoblasto que recubre las vellosidades

Daño histológico evaluado	Tinción Trofoblasto (CK-7)
Desprendimiento	
Denudamiento	
Ruptura	

Imágenes representativa de corte transversal de explantes placentarios teñidos con CK-7 específico de trofoblasto

# *P. falciparum* induce daño al trofoblasto en HPE expuesto *ex vivo*



**G-I.** Panel de microfotografías representativas de HPE teñidas con CK-7. **J-L.** Frecuencia de desprendimiento del trofoblasto (flecha blanca), ruptura del trofoblasto (punta de flecha blanca) y denudación del trofoblasto (asterisco rojo). Los gráficos de barras representan las medias ME  $\pm$  SEM. n=7. ANOVA de una vía a modelo mixto con prueba de comparaciones múltiples (Tukey). Barra de escala: 20  $\mu$ m. Aumento total (400X).

## Evaluación de la distribución/organización del colágeno

**Score**

**Desorganización del colágeno (PRS)**

**4**

Fuerte birrefringencia de colágeno

**3**

Moderada birrefringencia de colágeno

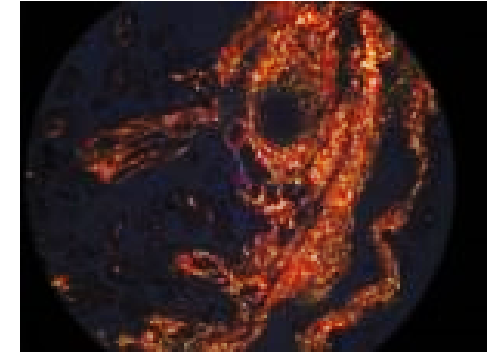
**2**

Baja birrefringencia de colágeno

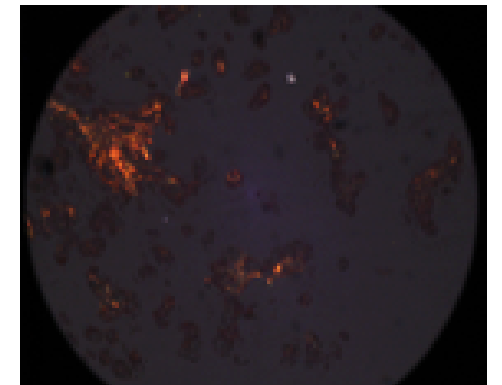
**1**

Ausencia de birrefringencia de colágeno

Puntaje 4

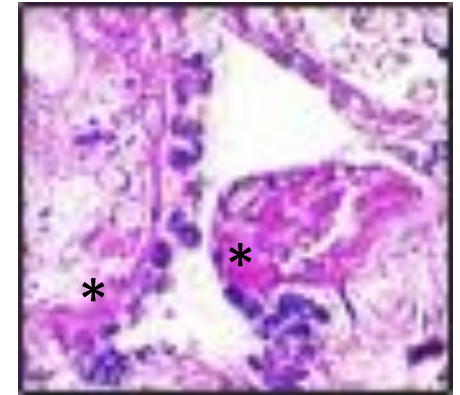


Puntaje 1

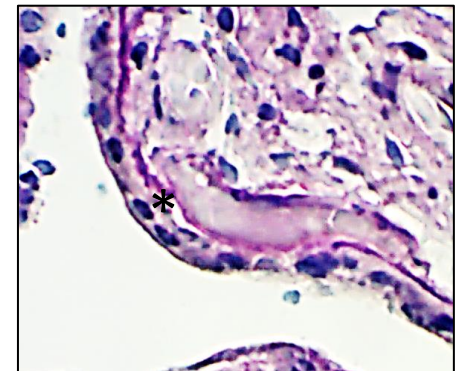


Cuantificación de regiones de engrosamiento de la lámina basal	
Score	Daño de la lámina basal (PAS)
4	Más de 5 regiones de engrosamiento por vellosidad
3	Entre 3 y 4 regiones de engrosamiento por campo
2	Entre 1 y 2 regiones de engrosamiento por campo
1	Ausencia de regiones de engrosamiento

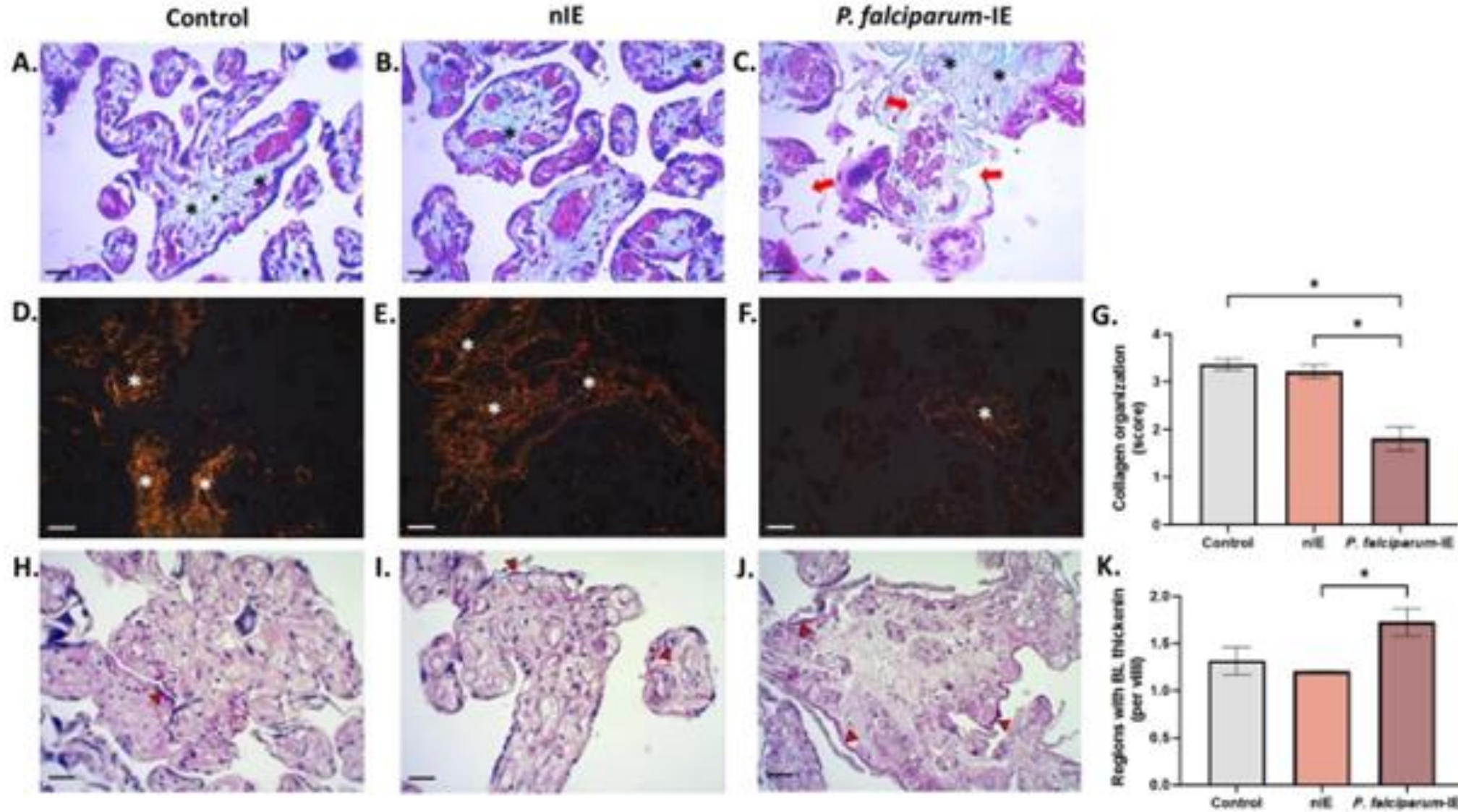
Puntaje 4



Puntaje 1



***P. falciparum* desordena el colágeno en el estroma veloso de HPE expuesto *ex vivo* e induce un aumento en las regiones con engrosamiento de la lámina basal del trofoblasto**

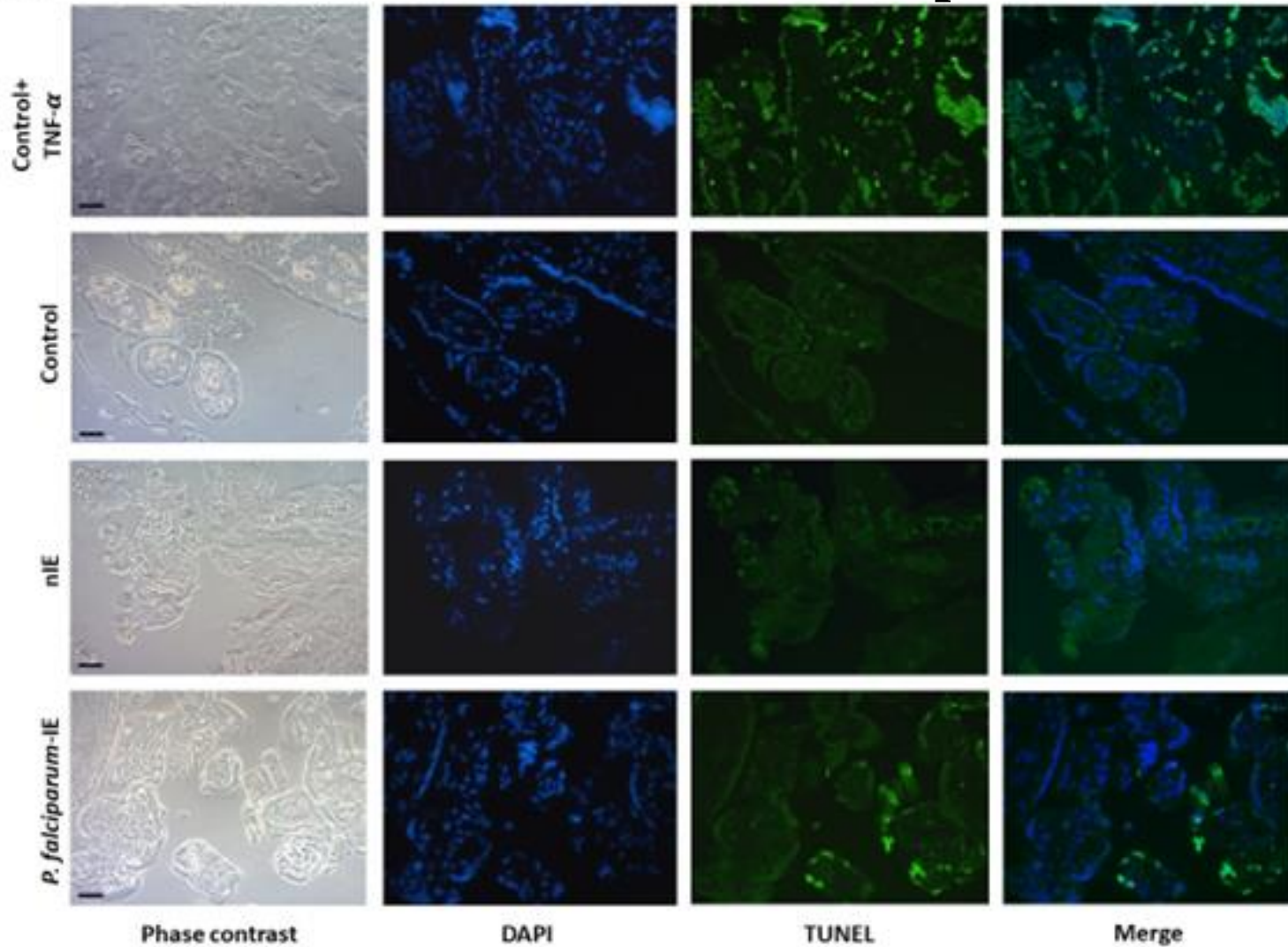


**A-C.** TM para visualizar la organización de las fibras de colágeno en azul (asterisco negro), áreas sin fibras de colágeno (flechas rojas). **D-F.** PSR (asterisco blanco). **G.** Análisis estadístico de la distribución de Col I con PSR. **H-J.** PAS para identificar áreas de engrosamiento de la lámina basal (punta de flecha roja). **K.** Análisis estadístico de áreas de engrosamiento de la lámina basal utilizando PAS. Los gráficos de barras representan las medias ME  $\pm$  SEM. n=3. ANOVA de una vía para medidas repetidas con una prueba de comparaciones múltiples (Tukey). Aumento total para TM y PAS (400X) (A-C y H-J). Aumento total de PSR (200X) (D-F). Barra de escala: 20  $\mu$ m.

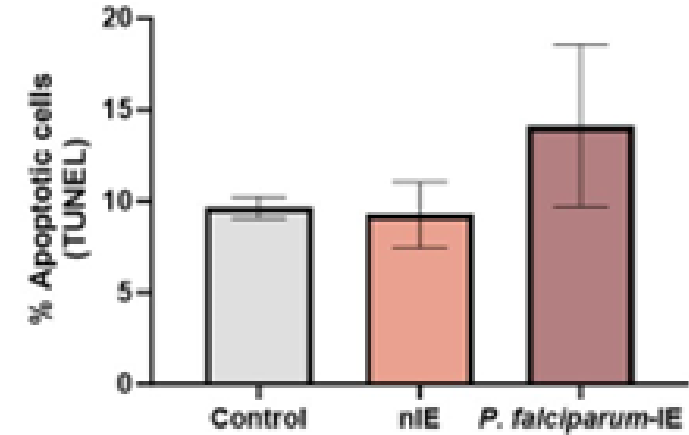
# *P. falciparum* no afecta significativamente la apoptosis celular de HPE

expuesto *ex vivo*

A.



B.



**A.** Panel de fotografías representativas de HPE expuesto *ex vivo* a *P. falciparum* marcado con TUNEL. El control positivo corresponde a HPE expuesto a TNF- $\alpha$  (20 ng/mL) durante 24 horas. **B.** Análisis estadístico de los datos presentados en A. No hay diferencias estadísticamente significativas en la fragmentación del ADN entre los diferentes grupos de estudio. Los gráficos de barras representan las medias ME  $\pm$  SEM. n=3. ANOVA de medidas repetidas de una vía con pruebas de comparaciones múltiples (Tukey). Barra de escala: 20  $\mu$ m. Aumento total 400X.





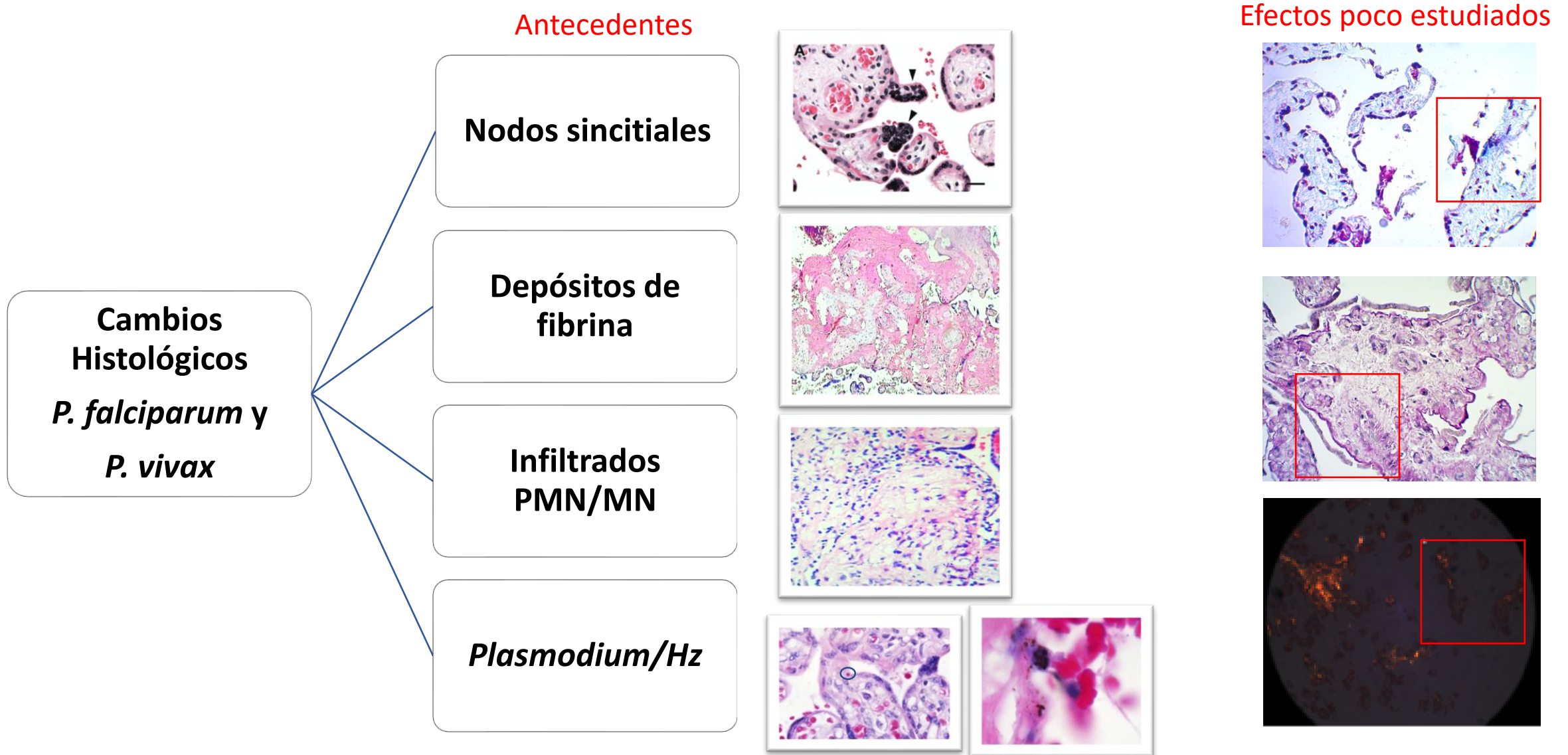
## Producción y liberación de citocinas y factores angiogénicos por HPE expuesto *ex vivo* a *P. falciparum*

Cytokines [pg/mL] n=8	nIE	<i>P. falciparum</i> -IE	P value
IL-6	18887 ± 4658	23034 ± 6400	0.188
IFN- $\gamma$	67.6 ± 6.9	76.2 ± 9.5	0.399
IL-4	62.3 ± 7.0	72.9 ± 8.6	0.257
IL-17	37.7 ± 4.2	45.62 ± 5.4	0.228
IL-10	6.1 ± 0.7	9.2 ± 1.8	0.066
IL-2	4.8 ± 0.4	5.67 ± 0.7	0.232
Angiogenic factors [pg/mL] n=5			
sFLT-1	7362 ± 991	7262 ± 1419	0.908
Endoglin	47.8 ± 1.2	55.4 ± 8.1	0.334
PIGF	52.3 ± 3.2	58.2 ± 14.4	0.694
VEGF	44.9 ± 3.8	45.9 ± 4.7	0.841

Se presentan los resultados de la producción de citocinas y factores angiogénicos en HPE cultivados durante 24 horas con *P. falciparum* y sus respectivos controles. Citocinas (n=8), factores angiogénicos (n=5). Los datos representan la media ME  $\pm$  SEM, el análisis estadístico se realizó con la prueba t pareada.



# Consecuencias de la malaria placentaria: Hallazgos histológicos



## Conclusions

*P. falciparum* induce daño en la membrana del trofoblasto en el modelo de infección *ex vivo*.

*P. falciparum* no solo altera el **trofoblasto**, sino también la **matriz extracelular** de las vellosidades.

Es importante profundizar en los **mecanismos de la patogénesis que no se limitan solo a la citoadherencia en la barrera sincitiotrofoblástica**, sino que posiblemente involucran la alteración de componentes estromales como el colágeno, perturbando la integridad estructural del estroma velloso.

Los hallazgos de este estudio podrían tener implicaciones para futuras pautas de manejo en regiones endémicas de malaria.





**¡Muchas gracias!**

