

11217



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZALEZ"

91

BALANCE DE RESPUESTA Th1/Th2 EN LA
INTERFASE PLACENTARIA DURANTE EL TRABAJO
DE PARTO NORMAL Y PRETERMINO

T E S I S

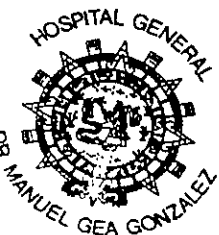
PARA OBTENER EL TITULO DE:

E S P E C I A L I D A D E N

G I N E C O L O G I A Y O B S T E T R I C I A

P R E S E N T A :

DRA. ANA LUCIA MARTINEZ CERMEÑO



MEXICO, D. F.

ENERO, 2000.

276337



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DR. ENRIQUE GARCIA LARA

Subdirector de Ginecología y Obstetricia



Directora de Investigación



Hospital General
"Dr. Manuel Gea González"

Subdirección de Enseñanza

DRA. MARIA TERESA VELAZCO JIMENEZ

Subdirectora de Enseñanza

DR. LUIS ALBERTO VILLANUEVA EGAN

Subdirector de Investigación

LA VIDA
NO ES UN PROBLEMA
QUE HAYA QUE RESOLVER
NI UNA PREGUNTA
QUE HAYA QUE RESPONDER.
LA VIDA ES UN MISTERIO
QUE HAY QUE CONTEMPLAR
ADMIRAR
Y SABOREAR.

La sinfonía

AGRADECIMIENTOS

A *Dios*, por su presencia en cada instante de mi vida.

A *Jesure y Silvia*, por todo su amor, confianza y apoyo incondicional.

A *Mire y Gaby*, por estar siempre conmigo y compartir todos nuestros sueños, éxitos y derrotas

A *Gra y Felipe*, por su apoyo y por ser un ejemplo a seguir

A *Lucila, Victor, Armando y Hermelo*, por su ayuda cuando la necesitaba.

A *Javier Leyva †*, por compartir conmigo momentos importantes y por seguir estando aquí

A ti, *UAZ*, por estar aquí y ser lo que eres.

A *Rafa*, por formar parte de todo esto

A *Ale y Clau*, por ser mis grandes amigas y compartir todas las alegrías y tristezas

A *mis profesores y compañeros*, por todas sus enseñanzas y por permitirme compartir con ellos 4 años de mi vida.

BALANCE DE RESPUESTA TH1/TH2 EN LA INTERFASE PLACENTARIA DURANTE EL TRABAJO DE PARTO NORMAL Y PRETERMINO

INVESTIGADORES:

Investigador responsable.

Dr. Enrique García Lara
Subdirector de Ginecología y Obstetricia

Investigador principal

Dra. Ana Lucia Martínez Cermeño
Residente de 4° año de Ginecología y Obstetricia

Investigadores asociados.

Dr Felipe Vadillo Ortega
Subdirector de Investigación Básica. Instituto Nacional de Perinatología. SS

SEDE

Departamento de Ginecología y Obstetricia del Hospital General "Dr
Manuel Gea González".

Departamento de Biología de la Reproducción INNSZ.

INDICE

TITULO	PAGINA
Indice	1
Antecedentes	2
Marco de referencia	6
Planteamiento del problema	10
Justificación	10
Objetivo	11
Hipotesis	11
Diseño	12
Material y Metodos	12
Criterios de selección	13
Variables	14
Parametros de medición	14
Procedimiento de captación de información	15
Recursos	17
Validación de datos	17
Resultados	17
Discusión	19
Conclusiones	22
Consideraciones éticas	22
Referencias bibliográficas	23
Anexos	26

ANTECEDENTES

La Organización Mundial de la Salud considera como parto pretérmino, al nacimiento del feto que ocurre antes de las 37 semanas de gestación (1), antecedido por la presencia de un trabajo de parto regular, definido este, cuando ocurre más de una contracción cada 10 minutos, con una duración mayor de 30 segundos de duración y que son capaces de producir modificaciones cervicales.

Para diagnosticarlo es necesario conocer la edad gestacional calculada por fecha de última menstruación, en caso de no conocerse o existir alguna duda, es necesario apoyarse en parámetros ultrasonográficos para determinarla. La actividad uterina se detecta por clínica o por monitorización tocográfica y mediante revisión ginecológica se determina el grado de borramiento y dilatación del cuello uterino.

Al integrarse el diagnóstico de parto pretérmino se debe considerar la presencia de ruptura de membranas, de infecciones corioamnióticas, infecciones de vías urinarias, óbito, malformaciones fetales graves, enfermedades maternas descompensadas y otras complicaciones obstétricas frecuentemente asociadas a este diagnóstico, con la finalidad de normar la conducta obstétrica y estimar el pronóstico para las madres y el feto

El nacimiento pretérmino es uno de los principales problemas de salud reproductiva, directamente responsable de 75 a 90% de muertes neonatales no relacionadas a malformaciones congénitas letales (2,3). También es causa de morbilidad neonatal a corto y largo plazo. Las principales complicaciones de los recién nacidos pretérmino se deben a inmadurez orgánica, estas complicaciones incluyen Síndrome de dificultad respiratoria, persistencia de conducto arterioso, enterocolitis necrozante, hiperbilirrubinemia, apnea del prematuro y sepsis neonatal. Actualmente solo el 7.5% de los recién nacidos pretérmino con peso menor de 1500 gr superan esta etapa sin complicaciones (4) En Estados Unidos el porcentaje de nacimientos pretérmino es de 10.2%.

Existen muchos factores de riesgo que identifican a pacientes con probabilidades de tener nacimientos pretérmino, sin embargo el 47% no presentan ninguno de ellos

(3), en otras palabras en casi la mitad de las pacientes con parto pretérmino no es posible prevenirlo.

La fisiopatogenia del parto pretérmino es desconocida, esto no es sorprendente, ya que tampoco comprendemos totalmente los mecanismos fisiológicos que desencadenan espontáneamente el trabajo de parto en embarazos a término.

Algunos autores han propuesto dividir a la última etapa del embarazo de término en 4 fases, llamadas fases uterinas. La fase 0 corresponde a la etapa en donde el útero es incapaz de responder a estímulos de agentes uterotónicos, en teoría esta refractariedad miométrial se debe a inhibición activa en donde la progesterona juega un papel importante. En la fase 1 se presentan cambios anatómicos y fisiológicos como borramiento cervical, aumento en número de células en receptores a oxitocina, con capacidad contractil. Esta fase esta limitada en tiempo por dos periodos de transición, el período previo se conoce como el período de iniciación del parto, es en este tiempo donde debería presentarse la señal que iniciará los cambios en la fase 1. El período posterior se conoce como el inicio del trabajo de parto, en donde el miometrio esta en condiciones de responder a uterotónicos endógenos o exógenos (5). Este período parece corresponder clínicamente a la fase latente del primer período del trabajo de parto descrito por Friedman (6)

Existen varias teorías con respecto a la señal de iniciación del trabajo de parto en pacientes con embarazos a término, sin embargo ninguna de ellas es capaz de explicarla completamente, lo que hace posible la participación de varias señales. (7)

Teoría de supresión de la progesterona. Tradicionalmente se ha considerado que la progesterona tiene un efecto favorable sobre la gestación y que la supresión de ésta en cualquier etapa del embarazo, es responsable del inicio del parto en animales de experimentación. A pesar de tal evidencia, en humanos no se ha podido demostrar la disminución de progesterona previa a la iniciación del parto, ni tampoco se ha identificado algún mecanismo que disminuya la eficacia de esta hormona en el órgano blanco sin disminuir los niveles de progesterona en plasma. Finalmente, tampoco se ha demostrado relación causal entre disminución de progesterona y los diferentes cambios anatomo-fisiológicos de la fase uterina 1 antes mencionada. En conclusión la

progesterona parece participar directa e importantemente en la refractariedad uterina antes del inicio de parto pero no hay evidencia de que su disminución sea la señal que induzca las condiciones necesarias para el inicio del parto.

Teoría de la comunicación entre órganos: Esta teoría propone básicamente que la señal inicial se origina en el feto y mediante el líquido amniótico, membranas corioamnióticas y decidua esta señal es traducida al ambiente materno para la iniciación del parto (8). La señal producida en el feto parece ser de tipo endocrina (aumento en la síntesis de cortisol suprarrenal), esta induce la producción de mediadores de la inflamación en el líquido amniótico, esta señal es amplificada en las membranas corioamnióticas con la síntesis de prostaglandinas (PG's), factor activador de plaquetas (PAF) y endotelina 1 (ET-1), que a nivel de decidua inducen la activación de los macrófagos, los cuales median la activación de la respuesta inmune con la producción de citocinas como IL-1, IL-6 y TNF alfa. Esta respuesta induce la liberación de enzimas lisosomales, síntesis de prostaglandinas y la activación de la colagenasa cervical (5, 9,10).

Teoría de la oxitocina: Se basa en la experiencia clínica, la oxitocina ha sido utilizada para inducir trabajo de parto en mujeres embarazadas con diferentes edades gestacionales. Sus niveles séricos y los receptores miométriales esta elevados al final del embarazo. Sin embargo, la oxitocina no parecer tener un papel fisiológico en la iniciación del parto ni en el inicio de trabajo de parto, antes de que estén presentes los cambios característicos de la fase 1. Segundo, la oxitocina no suspende la fase 0 ni induce la fase 1. Tercero, los niveles séricos de oxitocina solo se incrementan durante el segundo período de trabajo de parto, es decir, en el período expulsivo y sus concentraciones sanguíneas previas no ofrecen la posibilidad de que esta tenga algún papel relevante en la iniciación del parto ni en el inicio del mismo (11)

Teoría de las prostaglandinas: Hace 25 años se propuso que las prostaglandinas eran agentes uterotónicos capaces de iniciar el parto. La experiencia acumulada en este sentido se resume en los siguientes puntos. primero, el tratamiento de mujeres embarazadas con PG's causa aborto o parto de cualquier edad gestacional (5,9)

Segundo, la concentración de PG's y sus metabolitos se encuentran aumentadas en el líquido amniótico, plasma y orina maternas durante el trabajo de parto. Tercero, los inhibidores de las PGH2 sintetasa retrasa el parto a término o el aborto inducido y en algunas ocasiones el parto pretérmino (12) y por último las PG's causan contracciones de fibras miometriales in vitro. Hoy en día existen razones suficientes para pensar que estas grandes cantidades de PG's en el plasma materno, líquido amniótico y orina materna son consecuencia del trabajo de parto y no necesariamente que estos eicosanoides tiene algún papel en la iniciación del parto. Por lo tanto, el éxito de las PG's en la inducción de parto puede ser independiente al proceso fisiológico. Esto también es verdad para otros uterotónicos mediadores de la respuesta inflamatoria como: PAF y ET-1 (5).

Por otro lado existe una consideración más en contra de esta teoría, las cantidades de ácido araquidónico, sustrato principal en la síntesis de PG's, se encuentra en cantidades muy pequeñas antes del inicio del parto en el líquido amniótico y membranas fetales. Aún más, si estas se produjeran, parece difícil que llegaran al miometrio antes de ser metabolizadas (13-15).

Teoría inmunológica: En este contexto de teorías incapaces de explicar el mecanismo de iniciación del parto y dado que el embarazo representa un problema en términos de la función inmunológica materna, por tratarse de un aloinjerto en el que al menos la mitad de los antígenos pueden ser reconocidos como extraños, ya que actualmente conocemos diferentes mecanismo de evasión de la respuesta inmune ejecutados por la placenta (16, 17) parece coherente la idea de que la pérdida de la tolerancia inmunológica este vinculadas con el inicio del parto y dado que el nacimiento de un feto supone la presencia de tres eventos indispensables sin importar la edad gestacional(tales eventos son: la actividad uterina, las modificaciones cervicales y el rompimiento de membranas corioamnióticas), en donde existen evidencias de que la activación de enzimas responsables del rompimiento de las membranas y de las modificaciones cervicales es mediante la presencia de algunas citocinas como el factor de necrosis tumoral alfa, sustenta la sospecha de la participación de la respuesta inmune como desencadenante de trabajo de parto.

MARCO DE REFERENCIA

Los avances en el campo de la inmunología en los últimos 50 años han transformado el concepto inicial del sistema de defensa del organismo, en un sistema coordinado y complejo que nos permite una mejor comprensión de los procesos fisiológicos y fisiopatológicos observados en el ser humano.

La revolución tecnológica ha permitido ampliar el conocimiento en las áreas de la biología molecular, genética y endocrinología. En este contexto, el sistema inmune corresponde a una red de comunicación que a semejanza con el sistema nervioso coordina la función de otros grupos celulares, además de las funciones propias tradicionalmente atribuidas de ser un sistema de defensa, esto se debe a la diversidad de los mecanismos involucrados en sus respuestas.

Clásicamente la respuesta inmune se ha dividido en específica o adquirida y en inespecífica o natural. Con relación a la primera, esta requiere de una serie de elementos que permiten una diferenciación de linfocitos capaces de producir una respuesta específica celular o humoral, dirigida hacia la eliminación del agente extraño al organismo (16,17).

En la respuesta inmune celular se requiere de la diferenciación de los linfocitos en el timo, y su expansión clonal. Los linfocitos además desempeñan una función orquestadora de la respuesta inmune global.

Desde 1989 Mosmann describió dos patrones diferentes de citocinas sintetizadas por los linfocitos T cooperadores (Th), las cuales permitían desempeñar diferentes funciones. (20)

Actualmente ha surgido gran cantidad de datos que confirman la existencia de una respuesta polarizada de las células T humanas. Tal respuesta no solamente esta basada en un patrón definido de citocinas, sino en una serie de diferencias que explican el compartimiento de la respuesta inmune de diferentes estados patológicos

(20-26)

En el contexto de teorías incapaces de explicar los mecanismos de iniciación de trabajo de parto; sabiendo que el embarazo representa un problema en términos de la función inmunológica materna, por tratarse de un aloinjerto, ya que al menos la mitad de los antígenos son potencialmente reconocibles como extraños por las células inmunes de la madre, y que la placenta es responsable de ejecutar diversas maniobras de evasión inmunológica, parece lógico pensar que la iniciación del parto se deba a una pérdida del balance de las respuestas inmunológicas mencionadas anteriormente (23,24)

Recientemente se ha reconocido en el ratón, la existencia de un balance delicado en la red de señales que coordinan la función de los linfocitos, sobre todo a nivel de la interface madre-feto. En este modelo, por lo menos, se ha demostrado que la placenta induce la función Th2 en el entorno de contacto con la madre, tal función es característicamente inmunosupresora y por lo tanto promueve el mantenimiento del embarazo. Aun más, se ha demostrado que en hembras de esta especie, abortadoras habituales, presentan un patrón de respuesta Th1.

Si esto fuera así en el humano, la intolerancia al embarazo podría darse en cualquier momento de la gestación, y un incremento en la respuesta Th1 pudiera participar en la iniciación del trabajo de parto tanto en embarazos de término como pretérmino.

Conociendo las subpoblaciones de linfocitos en los diferentes compartimientos que relacionan a la madre con el feto, podemos inferir en cierta medida el microambiente de citocinas y por lo tanto definir si se trata de una respuesta Th1 o una Th2.

Hasta la fecha no se ha analizado el balance de esta relación durante el trabajo de parto o su activación anormal durante el parto pretérmino, por lo que en este estudio nos proponemos describir el sistema Th1/Th2 en el entorno materno-fetal, antes y durante el trabajo de parto normal y comparar sus características con las de casos de pacientes con partos pretérmino.

Experimentalmente es posible alterar este balance en el ratón, al inducir la respuesta Th1 el embarazo se pierde. Es muy probable que en el humano exista una réplica de este sistema que facilita o impide la evolución del embarazo. (25)

Los linfocitos cooperadores (Th, CD4+) pueden ser clasificados de acuerdo con el patrón de citocinas que sintetizan (20).

Linfocitos Th1 y Th2.

Los linfocitos Th se dividen en Th1 y Th2. Los Th1 producen selectivamente interferon gama (IFN γ), interleucina 2 (IL-2) y Factor de Necrosis Tumoral beta (TNF β). Este patrón de citocinas promueve diferentes acciones como la producción de anticuerpos opsonizadores y fijadores de complemento, activación de macrófagos, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos y la hipersensibilidad retardada. Debido a esto se les considera responsables de la respuesta fagocítica del huésped. (21)

Los Th2 producen IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13. este patrón se encarga de hacer más eficiente la respuesta inmune humoral, favoreciendo la producción de anticuerpos, incluyendo el IgE y el isómero de IgG1, así como inmunidad de las mucosas al promover el crecimiento, diferenciación y actividad de mastocitos y eosinófilos. También algunas de estas citocinas inhiben la función fagocítica de los macrófagos. (21)

La polarización de estas respuestas no resulta siempre tan clara, existiendo estados con una mezcla de ambas; a esta condición se le conoce como Th0. Parece tratarse de un estado transitorio en el que su diferenciación depende de estímulos externos y de la información genética individual (21)

Con este modelo Th1 y Th2 en mente es posible entender varios procesos fisiopatológicos y también parece factible desarrollar nuevas estrategias terapéuticas. (21)

Los marcadores moleculares de actividad Th1 o Th2 no se presentan sistemáticamente en todos los modelos de enfermedad en donde se ha demostrado una respuesta de tipo Th. Por ejemplo, entidades como la enfermedad de Crohn, asma alérgica y conjuntivitis primaveral, son enfermedades con una respuesta Th2

dominante, en las que no se ha expresado el marcador CD30+.

De manera semejante, el marcador LAG-3 regulado por IL-2, esta última una citocina con un poderoso efecto inductor de Th1, tiene una buena correlación con la secreción de INF γ y no así con IL-4 (21)

Células Th murinas.

Teóricamente la diferenciación fenotípica de la respuesta Th1 y Th2 depende de distintos precursores, la mayoría de las investigaciones realizadas apoyan la idea de que cada factor puede inducir de manera individual la diferenciación (21)

Factores ambientales y genéticos, determinan la diferenciación de las células Th, no obstante se desconoce el mecanismo mediante el cual se lleva a cabo esta diferenciación.

Los factores ambientales a considerar son: el sitio de presentación, forma física del inmunógeno, la dosis del antígeno y el tipo de adyuvante.

El ingreso del antígeno (Ag) a través de las mucosas oral y respiratoria, induce fácilmente una respuesta tipo Th2. La menor solubilidad del Ag. induce preferencialmente Th1, así como altas y muy bajas dosis de Ag. frecuentemente inducen respuesta Th2. (21)

Una alta afinidad del antígeno peptídico por la molécula de MHC clase II (el equivalente murino al complejo de moléculas HLA en el humano) resulta en una mayor producción del INF gama, mientras que si la afinidad es baja, simplemente se asocia con la producción de IL-4. (21)

Las células presentadoras de antígeno (APC) posiblemente participan también en la diferenciación de las células Th.

Quizá los factores que ejercen una influencia más clara en la diferenciación de las células Th son citocinas, estas pueden ser secretadas por alguna de las células de la triada Ag./APC/Célula Th. Existe consenso general de que las citocinas más críticas, en la diferenciación de las células Th, durante la presentación del Ag. son IL-2 e IL-4. (21)

La IL-2 es sintetizada por células de la inmunidad celular inespecífica y son el principal determinante de la diferenciación hacia Th1.

De manera contraria IL-4 es promotor de la respuesta Th2. Las fuentes de

IL-4 no están claramente reconocidas. Entre los candidatos figuran desde células T nativas, de memoria y efectoras, hasta células no T. (21)

Las células efectoras CD4+NK1+ son la fuente más importante de IL-4, a pesar que esto tiene poco significado biológico (21).

Células Th humanas.

Estudios realizados en modelos in vitro, también sugieren un papel regulador crítico de las citocinas, incluyendo a las producidas por células de la inmunidad natural, en la determinación del desarrollo de las células Th.

Mientras que la IL-2 favorece la diferenciación Th1, en cultivos de células T alérgeno-específicas, su bloqueo promueve la diferenciación de Th1 hacia Th0/Th2. Posteriormente se demostró el efecto de IL-12 en clonas celulares diferenciadas en Th2.

Las posibles fuentes de IL-4 en humanos pueden ser células no T de la médula ósea, mastocitos, basófilos y eosinófilos, células T CD45+ nativas o células T neonatales (21).

En conclusión, la diferenciación de los linfocitos Th es un proceso complejo en el que participan factores genéticos y ambientales. Entre los inductores más importantes de la diferenciación celular de subpoblaciones linfocitarias se encuentran las diferentes citocinas. De acuerdo a lo anterior, no es difícil contemplar el inicio del trabajo de parto como un modelo biológico en el que participen diferentes grupos celulares de acuerdo a su ocurrencia a término o pretérmino.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿ Existe alguna diferencia entre el balance de las respuestas TH1/Th2 en la interfase placentaria durante el trabajo de parto normal o pretérmino, y en la ausencia de este?

JUSTIFICACION

El parto pretérmino es uno de los principales problemas de salud materno-fetal siendo responsable de 75 a 90% de las muertes neonatales no relacionadas con

malformaciones congénitas letales

Constituye una complicación frecuente y grave del embarazo en el ámbito mundial y en el momento actual existen más de 40% nacimientos pretérmino sin explicación. Son pocos los beneficios obtenidos con medidas terapéuticas para el recién nacido y la madre, además de ser costosos, por lo que si se conoce cuales son los mecanismos que intervienen en su desencadenamiento se podrán encaminar medidas preventivas y específicas contra ellos. Sin embargo el panorama aún es oscuro y no se tienen datos precisos al respecto.

En animales de experimentación se ha demostrado que el mantenimiento del embarazo depende de un balance estricto entre las subpoblaciones linfocitarias denominadas Th1 y Th2, sin embargo, en el trabajo de parto humano su participación no ha sido demostrada, por lo que su conocimiento nos permitirá entender los mecanismos que operan en el mantenimiento y /o terminación del embarazo y caracterizar su relación con el sistema inmune. Lo que eventualmente facilitará el diseño de medidas terapéuticas específicas.

OBJETIVO

Caracterizar las subpoblaciones de linfocitos en los compartimientos materno, placentario y fetal en pacientes con nacimientos pretérmino, a término con trabajo de parto y embarazos a término sin trabajo de parto.

HIPOTESIS

Si uno de los desencadenantes del trabajo de parto es de origen inmunológico y la población de linfocitos son diferentes antes y después del trabajo de parto, entonces esta diferencia estará relacionada con el desencadenamiento del trabajo de parto.

malformaciones congénitas letales.

Constituye una complicación frecuente y grave del embarazo en el ámbito mundial y en el momento actual existen más de 40% nacimientos pretérmino sin explicación. Son pocos los beneficios obtenidos con medidas terapéuticas para el recién nacido y la madre, además de ser costosos, por lo que sí se conoce cuales son los mecanismos que intervienen en su desencadenamiento se podrán encaminar medidas preventivas y específicas contra ellos. Sin embargo el panorama aún es oscuro y no se tienen datos precisos al respecto.

En animales de experimentación se ha demostrado que el mantenimiento del embarazo depende de un balance estricto entre las subpoblaciones linfocitarias denominadas Th1 y Th2, sin embargo, en el trabajo de parto humano su participación no ha sido demostrada, por lo que su conocimiento nos permitirá entender los mecanismos que operan en el mantenimiento y /o terminación del embarazo y caracterizar su relación con el sistema inmune. Lo que eventualmente facilitará el diseño de medidas terapéuticas específicas.

OBJETIVO

Caracterizar las subpoblaciones de linfocitos en los compartimientos materno, placentario y fetal en pacientes con nacimientos pretérmino, a término con trabajo de parto y embarazos a término sin trabajo de parto.

HIPOTESIS

Si uno de los desencadenantes del trabajo de parto es de origen inmunológico y la población de linfocitos son diferentes antes y después del trabajo de parto, entonces esta diferencia estará relacionada con el desencadenamiento del trabajo de parto.

malformaciones congénitas letales.

Constituye una complicación frecuente y grave del embarazo en el ámbito mundial y en el momento actual existen más de 40% nacimientos pretérmino sin explicación. Son pocos los beneficios obtenidos con medidas terapéuticas para el recién nacido y la madre, además de ser costosos, por lo que sí se conoce cuales son los mecanismos que intervienen en su desencadenamiento se podrán encaminar medidas preventivas y específicas contra ellos. Sin embargo el panorama aún es oscuro y no se tienen datos precisos al respecto.

En animales de experimentación se ha demostrado que el mantenimiento del embarazo depende de un balance estricto entre las subpoblaciones linfocitarias denominadas Th1 y Th2, sin embargo, en el trabajo de parto humano su participación no ha sido demostrada, por lo que su conocimiento nos permitirá entender los mecanismos que operan en el mantenimiento y /o terminación del embarazo y caracterizar su relación con el sistema inmune. Lo que eventualmente facilitará el diseño de medidas terapéuticas específicas.

OBJETIVO

Caracterizar las subpoblaciones de linfocitos en los compartimientos materno, placentario y fetal en pacientes con nacimientos pretérmino, a término con trabajo de parto y embarazos a término sin trabajo de parto.

HIPOTESIS

Si uno de los desencadenantes del trabajo de parto es de origen inmunológico y la población de linfocitos son diferentes antes y después del trabajo de parto, entonces esta diferencia estará relacionada con el desencadenamiento del trabajo de parto.

HIPOTESIS NULAS

1.Ho: No existen diferencias en las subpoblaciones de linfocitos en los compartimientos materno, placentario y fetal en pacientes con nacimientos pretérmino, a término con trabajo de parto y embarazos de término sin trabajo de parto.

HIPOTESIS ALTERNAS

1. H1: Existen diferencias en las subpoblaciones de linfocitos en los compartimientos materno, placentario y fetal en pacientes con nacimientos pretérmino, a término con trabajo de parto y embarazos a término sin trabajo de parto

DISEÑO

Es un estudio comparativo, ciego, observacional, prospectivo y transversal.

MATERIAL Y METODOS

UNIVERSO DEL ESTUDIO

Pacientes que resuelvan su embarazo en el Hospital General "Dr Manuel Gea González" durante el período comprendido entre Diciembre de 1997 a Diciembre de 1998.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Debido a que no existe información disponible en la literatura científica, se realizará un estudio piloto con 15 pacientes distribuidas en 3 grupos de estudio.

FORMA DE ASIGNACION

Secuencial

CARACTERISTICAS DE LOS GRUPOS

Se formaran tres grupos.

Grupo 1: (Pretérmino) Pacientes con embarazos de 24 a 36 semanas de gestación por fecha de última menstruación o calculada por ultrasonido realizado durante el primer trimestre de gestación, corroborado por Capurro del recién nacido,

HIPOTESIS NULAS

1. Ho: No existen diferencias en las subpoblaciones de linfocitos en los compartimientos materno, placentario y fetal en pacientes con nacimientos pretérmino, a término con trabajo de parto y embarazos de término sin trabajo de parto.

HIPOTESIS ALTERNAS

1. H1: Existen diferencias en las subpoblaciones de linfocitos en los compartimientos materno, placentario y fetal en pacientes con nacimientos pretérmino, a término con trabajo de parto y embarazos a término sin trabajo de parto.

DISEÑO

Es un estudio comparativo, ciego, observacional, prospectivo y transversal.

MATERIAL Y METODOS

UNIVERSO DEL ESTUDIO

Pacientes que resuelvan su embarazo en el Hospital General "Dr. Manuel Gea González" durante el período comprendido entre Diciembre de 1997 a Diciembre de 1998.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Debido a que no existe información disponible en la literatura científica, se realizará un estudio piloto con 15 pacientes distribuidas en 3 grupos de estudio.

FORMA DE ASIGNACION

Secuencial

CARACTERISTICAS DE LOS GRUPOS

Se formaran tres grupos.

Grupo 1: (Pretérmino) Pacientes con embarazos de 24 a 36 semanas de gestación por fecha de última menstruación o calculada por ultrasonido realizado durante el primer trimestre de gestación, corroborado por Capurro del recién nacido,

HIPOTESIS NULAS

1.Ho: No existen diferencias en las subpoblaciones de linfocitos en los compartimientos materno, placentario y fetal en pacientes con nacimientos pretérmino, a término con trabajo de parto y embarazos de término sin trabajo de parto.

HIPOTESIS ALTERNAS

1. H1: Existen diferencias en las subpoblaciones de linfocitos en los compartimientos materno, placentario y fetal en pacientes con nacimientos pretérmino, a término con trabajo de parto y embarazos a término sin trabajo de parto

DISEÑO

Es un estudio comparativo, ciego, observacional, prospectivo y transversal.

MATERIAL Y METODOS

UNIVERSO DEL ESTUDIO

Pacientes que resuelvan su embarazo en el Hospital General "Dr. Manuel Gea González" durante el período comprendido entre Diciembre de 1997 a Diciembre de 1998.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Debido a que no existe información disponible en la literatura científica, se realizará un estudio piloto con 15 pacientes distribuidas en 3 grupos de estudio.

FORMA DE ASIGNACION

Secuencial

CARACTERISTICAS DE LOS GRUPOS

Se formaran tres grupos.

Grupo 1: (Pretérmino) Pacientes con embarazos de 24 a 36 semanas de gestación por fecha de última menstruación o calculada por ultrasonido realizado durante el primer trimestre de gestación, corroborado por Capurro del recién nacido,

con trabajo de parto que se resuelva por vía vaginal o vía abdominal.

Grupo 2: (Término) Pacientes con embarazos de término (más de 37 semanas de gestación) por fecha de última menstruación o calculada por ultrasonido realizado en el primer trimestre, con trabajo de parto, resuelto por vía vaginal o vía abdominal.

Grupo 3: (Control) Pacientes con embarazos de término(más de 37 semanas de gestación) por fecha de última menstruación o calculado por ultrasonido realizado en el primer trimestre, sin trabajo de parto espontáneo, resuelto por vía abdominal indicada por cualquier causa materna, obstétrica y fetal excepto las indicadas en los *criterios de exclusión*.

Por aspectos éticos es imposible incluir en el estudio pacientes con embarazo pretérmino sin trabajo de parto.

CRITERIOS DE SELECCION

CRITERIOS DE INCLUSION

1. Pacientes embarazadas sin complicaciones médicas con Diabetes mellitus, asma, artritis reumatoide, lupus eritematoso, hipertensión arterial, nefropatías.

2. Pacientes embarazadas sin complicaciones obstétricas como malformaciones uterinas, placenta previa, acretismo placentario, preeclampsia, incompetencia ístmico-cervical, Síndrome antifosfolípido primario, óbito, polihidramnios y oligohidramnios severo.

3. Pacientes embarazadas sin complicaciones infecciones detectadas clínicamente como: Corioamnioitis, pielonefritis, infecciones cervicovaginales y de vías urinarias bajas

4. Pacientes embarazadas sin alteraciones fetales detectadas clínicamente

con trabajo de parto que se resuelva por vía vaginal o vía abdominal.

Grupo 2: (Término) Pacientes con embarazos de término (más de 37 semanas de gestación) por fecha de última menstruación o calculada por ultrasonido realizado en el primer trimestre, con trabajo de parto, resuelto por vía vaginal o vía abdominal.

Grupo 3: (Control) Pacientes con embarazos de término (más de 37 semanas de gestación) por fecha de última menstruación o calculado por ultrasonido realizado en el primer trimestre, sin trabajo de parto espontáneo, resuelto por vía abdominal indicada por cualquier causa materna, obstétrica y fetal excepto las indicadas en los criterios de exclusión.

Por aspectos éticos es imposible incluir en el estudio pacientes con embarazo pretérmino sin trabajo de parto.

CRITERIOS DE SELECCION

CRITERIOS DE INCLUSION

1. Pacientes embarazadas sin complicaciones médicas con Diabetes mellitus, asma, artritis reumatoide, lupus eritematoso, hipertensión arterial, nefropatías.

2. Pacientes embarazadas sin complicaciones obstétricas como malformaciones uterinas, placenta previa, acretismo placentario, preeclampsia, incompetencia istmico-cervical, Síndrome antifosfolípido primario, óbito, polihidramnios y oligohidramnios severo.

3. Pacientes embarazadas sin complicaciones infecciones detectadas clínicamente como: Corioamnioitis, pielonefritis, infecciones cervicovaginales y de vías urinarias bajas

4. Pacientes embarazadas sin alteraciones fetales detectadas clínicamente.

5. Según la edad gestacional de los embarazos se incluirán en los diferentes grupos.

CRITERIOS DE EXCLUSION

1. Pacientes que no deseen participar en el estudio.
2. Pacientes que no cumplan con los criterios de inclusión.
3. Pacientes con embarazos menores de 24 semanas de gestación.

CRITERIOS DE ELIMINACION

Pacientes en las que no se obtengan resultados mediante citometría de flujo, ELISA, por cualquier alteración durante la toma o procesamiento de la muestra.

VARIABLES

VARIABLES INDEPENDIENTES

Edad, paridad, edad gestacional y vía de resolución del embarazo.

VARIABLES DEPENDIENTES

Subpoblaciones de linfocitos en los tres compartimientos estudiados.

PARAMETROS DE MEDICION

Cuantificaciones de subpoblaciones de linfocitos. las muestras de sangre anticoagulada de los tres compartimientos serán preparadas para ser leídas por citometría de flujo, las diferentes subpoblaciones de linfocitos serán expresadas en números.

5. Según la edad gestacional de los embarazos se incluirán en los diferentes grupos

CRITERIOS DE EXCLUSION

1. Pacientes que no deseen participar en el estudio.
2. Pacientes que no cumplan con los criterios de inclusión.
3. Pacientes con embarazos menores de 24 semanas de gestación.

CRITERIOS DE ELIMINACION

Pacientes en las que no se obtengan resultados mediante citometría de flujo, ELISA, por cualquier alteración durante la toma o procesamiento de la muestra.

VARIABLES

VARIABLES INDEPENDIENTES

Edad, paridad, edad gestacional y vía de resolución del embarazo

VARIABLES DEPENDIENTES

Subpoblaciones de linfocitos en los tres compartimientos estudiados.

PARAMETROS DE MEDICION

Cuantificaciones de subpoblaciones de linfocitos: las muestras de sangre anticoagulada de los tres compartimientos serán preparadas para ser leídas por citometría de flujo, las diferentes subpoblaciones de linfocitos serán expresadas en números.

5. Según la edad gestacional de los embarazos se incluirán en los diferentes grupos

CRITERIOS DE EXCLUSION

1. Pacientes que no deseen participar en el estudio.
2. Pacientes que no cumplan con los criterios de inclusión.
3. Pacientes con embarazos menores de 24 semanas de gestación.

CRITERIOS DE ELIMINACION

Pacientes en las que no se obtengan resultados mediante citometría de flujo, ELISA, por cualquier alteración durante la toma o procesamiento de la muestra.

VARIABLES

VARIABLES INDEPENDIENTES

Edad, paridad, edad gestacional y vía de resolución del embarazo.

VARIABLES DEPENDIENTES

Subpoblaciones de linfocitos en los tres compartimientos estudiados.

PARAMETROS DE MEDICION

Cuantificaciones de subpoblaciones de linfocitos: las muestras de sangre anticoagulada de los tres compartimientos serán preparadas para ser leídas por citometría de flujo, las diferentes subpoblaciones de linfocitos serán expresadas en números.

PROCEDIMIENTO DE CAPTACION DE INFORMACION

La selección de las pacientes se hizo en el servicio de urgencias y en la consulta externa del Hospital General “ Dr. Manuel Gea González”, basados en los criterios de inclusión ya descritos.

Se obtuvo sangre materna, 10 ml, tomados por venopunción de alguna vena superficial del antebrazo, durante las primeras 24 horas de ingreso al hospital. Sangre retroplacentaria, 10 ml tomados con pipeta pasteur de la cara materna de la placenta, inmediatamente después del alumbramiento y sangre de cordón, 10 ml tomados del cordón umbilical (arterias y vena umbilicales) por drenado inmediatamente después del alumbramiento. Todas las muestras ser recolectaron en tubos de polipropileno de 15 ml con 100 mcl de EDTA(ácido etilendiaminotetracético) excepto la sangre de cordón con 150 mcl

Análisis de subpoblaciones de linfocitos mediante citometría de flujo

La identificación de subpoblaciones de linfocitos por citometría de flujo, se realizó utilizando el sistema comercial IMK-Plus (Becton Dickinson Co), el cual empleó la mezcla de dos anticuerpos monoclonales por reacción. La adquisición e interpretación de las muestras se llevó a cabo en un citometro de flujo de FacScan marca Becton Dickinson, utilizando el paquete Lysys II.

Cuadro 1 Mezcla de anticuerpos monoclonales empleados en el sistema IMK-Plus

Reactivo	Anticuerpo (anti CD)	Subpoblación identificada
1.	CD3+	Linfocitos T totales
	CD19+	Linfocitos B
2.	CD4+	Linfocitos T cooperadores
	CD8+	Linfocitos T citotoxicos
3.	CD3+	Linfocitos T totales
	HLA DR+	Linfocitos T activados
4	CD3+	Linfocitos T totales
	CD16+/CD56+	Células NK

Tinción

1. Se tomó un ml de sangre anticoagulada de cada compartimiento, con 100 a 150 mcl de EDTA (ácido etinildiaminotetracético, Gibco, BRL), debidamente homogeneizada

2. Se identificaron seis tubos por muestra, en los cuales se mezclaron 100 ml de sangre y 50 mcl de los diferentes anticuerpos monoclonales que aparecen en el cuadro 1, se dejaron en incubación a temperatura ambiente durante 30 minutos.

3 Se agregaron 2 ml de solución de lisis al 10% (Becton Dickinson Co.), con la intención de destruir los eritrocitos, efecto conseguido después de 10 minutos.

4. Se centrifugó a 300 x g durante 5 min. , y se decantó de un golpe el sobrenadante. El paquete celular se resuspendió en solución de PBS, para después repetir el lavado de las células marcadas.

5. Las células marcadas con los anticuerpos se fijaron con paraformaldehído (fisher Co) al 1% en solución de PBS.

6 La adquisición y análisis de las muestras se realizó en un citómetro de flujo (FacScan), en un lapso no mayor a 48 horas, utilizando el paquete de Lysys II.

Utilizando las variables FSC (forward scatter chanel) versus SSC (Side scatter chanel), se definió la región de linfocitos, a partir de la cual se determinaron los porcentajes de las subpoblaciones de linfocitos, al determinar la fluorescencia mostrada por dicha región en el canal 1 (variable X) versus 2 (variable Y).

RECURSOS

RECURSOS MATERIALES

Tubos de polipropileno de 15 ml con 100 mcg de EDTA, jeringas de 10 ml, pipetas pasteur, citómetro de flujo FacScan marca Becton Dickinson con paquete Lysys II, sistema comercial IMK-Plus (Becton Dickinson Co.), solución de PBS, paraformaldehído (fisher Co.) al 1%, métodos inmunoenzimáticos cuantitativos comerciales (elisa tipo Sandwich, Quantikine, R&D) tetrametilbencidina, acetato de formol miristato (PMA).

VALIDACION DE DATOS

Se aplicaron pruebas estadística descriptiva (media y desviación estándar) para cada grupo. Las comparaciones entre los grupos se realizaron mediante pruebas de estadística inferencial (prueba de t de Student o ANOVA). Cuando La normalidad no se alcanzó se utilizó la prueba U de Mann-Whitney. Se considera una diferencia como estadísticamente significativa cuando el valor de P sea menor a 0.05.

RESULTADOS

Para realizar este estudio se tomo muestras de 35 pacientes de acuerdo a los criterios de inclusión, se eliminaron 15 de ellas por defectos en la técnica de

6. La adquisición y análisis de las muestras se realizó en un citómetro de flujo (FacScan), en un lapso no mayor a 48 horas, utilizando el paquete de Lysys II.

Utilizando las variables FSC (forward scatter channel) versus SSC (Side scatter channel), se definió la región de linfocitos, a partir de la cual se determinaron los porcentajes de las subpoblaciones de linfocitos, al determinar la fluorescencia mostrada por dicha región en el canal 1 (variable X) versus 2 (variable Y)

RECURSOS

RECURSOS MATERIALES

Tubos de polipropileno de 15 ml con 100 mcg de EDTA, jeringas de 10 ml, pipetas pasteur, citómetro de flujo FacScan marca Becton Dickinson con paquete Lysys II, sistema comercial IMK-Plus (Becton Dickinson Co), solución de PBS, paraformaldehído (fisher Co.) al 1%, métodos inmunoenzimáticos cuantitativos comerciales (elisa tipo Sandwich, Quantikine, R&D) tetrametilbencidina, acetato de formol miristato (PMA).

VALIDACION DE DATOS

Se aplicaron pruebas estadística descriptiva (media y desviación estándar) para cada grupo. Las comparaciones entre los grupos se realizaron mediante pruebas de estadística inferencial (prueba de t de Student o ANOVA). Cuando la normalidad no se alcanzó se utilizó la prueba U de Mann-Whitney. Se considera una diferencia como estadísticamente significativa cuando el valor de P sea menor a 0.05.

RESULTADOS

Para realizar este estudio se tomaron muestras de 35 pacientes de acuerdo a los criterios de inclusión, se eliminaron 15 de ellas por defectos en la técnica de

6. La adquisición y análisis de las muestras se realizó en un citómetro de flujo (FacScan), en un lapso no mayor a 48 horas, utilizando el paquete de Lysys II

Utilizando las variables FSC (forward scatter channel) versus SSC (Side scatter channel), se definió la región de linfocitos, a partir de la cual se determinaron los porcentajes de las subpoblaciones de linfocitos, al determinar la fluorescencia mostrada por dicha región en el canal 1 (variable X) versus 2 (variable Y).

RECURSOS

RECURSOS MATERIALES

Tubos de polipropileno de 15 ml con 100 mcg de EDTA, jeringas de 10 ml, pipetas pasteur, citómetro de flujo FacScan marca Becton Dickinson con paquete Lysys II, sistema comercial IMK-Plus (Becton Dickinson Co.), solución de PBS, paraformaldehído (fisher Co.) al 1%, métodos inmunoenzimáticos cuantitativos comerciales (elisa tipo Sandwich, Quantikine, R&D) tetrametilbencidina, acetato de formol miristato (PMA).

VALIDACION DE DATOS

Se aplicaron pruebas estadística descriptiva (media y desviación estándar) para cada grupo. Las comparaciones entre los grupos se realizaron mediante pruebas de estadística inferencial (prueba de t de Student o ANOVA). Cuando La normalidad no se alcanzó se utilizó la prueba U de Mann-Whitney. Se considera una diferencia como estadísticamente significativa cuando el valor de P sea menor a 0.05.

RESULTADOS

Para realizar este estudio se tomo muestras de 35 pacientes de acuerdo a los criterios de inclusión, se eliminaron 15 de ellas por defectos en la técnica de

6. La adquisición y análisis de las muestras se realizó en un citómetro de flujo (FacScan), en un lapso no mayor a 48 horas, utilizando el paquete de Lysys II.

Utilizando las variables FSC (forward scatter channel) versus SSC (Side scatter channel), se definió la región de linfocitos, a partir de la cual se determinaron los porcentajes de las subpoblaciones de linfocitos, al determinar la fluorescencia mostrada por dicha región en el canal 1 (variable X) versus 2 (variable Y).

RECURSOS

RECURSOS MATERIALES

Tubos de polipropileno de 15 ml con 100 mcg de EDTA, jeringas de 10 ml, pipetas pasteur, citómetro de flujo FacScan marca Becton Dickinson con paquete Lysys II, sistema comercial IMK-Plus (Becton Dickinson Co), solución de PBS, paraformaldehído (fisher Co.) al 1%, métodos inmunoenzimáticos cuantitativos comerciales (elisa tipo Sandwich, Quantikine, R&D) tetrametilbencidina, acetato de formol miristato (PMA).

VALIDACION DE DATOS

Se aplicaron pruebas estadística descriptiva (media y desviación estándar) para cada grupo. Las comparaciones entre los grupos se realizaron mediante pruebas de estadística inferencial (prueba de t de Student o ANOVA). Cuando la normalidad no se alcanzó se utilizó la prueba U de Mann-Whitney. Se considera una diferencia como estadísticamente significativa cuando el valor de P sea menor a 0.05.

RESULTADOS

Para realizar este estudio se tomaron muestras de 35 pacientes de acuerdo a los criterios de inclusión, se eliminaron 15 de ellas por defectos en la técnica de

obtención y por coagulación de las mismas. En total se obtuvieron 20 muestras, las cuales se sometieron a marcaje y se eliminaron 5 de ellas por defectos en la técnica. Finalmente se procesaron 15 muestras que fueron analizadas

El primer grupo, que corresponde a embarazos pretérmino, estuvo formado por pacientes entre los 18 y 28 años de edad, 4 de ellas primigestas y la última secundigesta con antecedente de un aborto, con embarazos de 28 a 33.4 semanas de desarrollo gestacional (SDG), la vía de resolución para 2 de ellas fue cesárea y el resto parto vaginal. El sexo de todos los productos fue masculino y el peso del recién nacido variaba entre 1000 y 2175 gr (Cuadro 1).

El segundo grupo, constituido por embarazos a término con trabajo de parto, estaba constituido por pacientes entre los 19 y 35 años, principalmente secundigestas, solo una de ellas primigesta, con embarazos entre 38.5 y 40.5 SDG, la vía de resolución del embarazo en cuatro de ellas fue vaginal, y solo una cesárea indicada por periodo expulsivo prolongado. El sexo de los productos fue 3 femenino y 2 masculino y el peso entre 3000 y 3700 gr (Cuadro 2).

Finalmente, el tercer grupo constituido por embarazos de término sin trabajo de parto, lo formaron pacientes entre 19 y 29 años, dos de ellas primigestas, dos secundigestas y una trigesta, con embarazos entre 39 y 40.3 SDG, todas con resolución del embarazo vía abdominal y se obtuvieron 4 productos de sexo masculino y 2 femenino con peso entre 2450 y 3200 gr (Cuadro 3)

Demográficamente no hubo diferencias entre los tres grupos. Se observa que los productos pretérmino son todos del sexo masculino.

Con el objeto de expresar la proporción de las distintas subpoblaciones linfocitarias encontradas en los diferentes compartimientos (madre-placenta-feto) se realizó un análisis por citometría de flujo en la que, considerando que después de contar 10 000 eventos aproximadamente 4000 de estos corresponden a los linfocitos.

Para este estudio se incluyeron 5 pacientes de cada grupo. Se realizaron comparaciones en los resultados de la citometría de flujo entre los diferentes grupos y

compartimientos (Cuadro 4-6).

La proporción de subpoblaciones de linfocitos en los diferentes compartimientos en todas las pacientes estudiadas fueron similares, excepto los linfocitos T activados en sangre de cordón los cuales demostraron estar significativamente elevados en los productos pretérmino.

DISCUSION

El trabajo de parto pretérmino es una complicación frecuente y grave del embarazo y representa un problema de salud pública en el ámbito mundial. Su origen no ha sido determinado con exactitud, teniendo repercusiones importantes en el bienestar materno-fetal. El parto pretérmino es un problema de salud reproductiva responsable del 75 al 90% de las muertes neonatales no relacionadas a malformaciones congénitas letales(2,3). También representa una causa importante de morbilidad neonatal con efectos a corto y largo plazo, con una frecuencia de 10 -11% de todos los nacidos vivos.

Los mecanismos que desencadenan el trabajo de parto humano son pobremente entendidos y de manera análoga los que operan en el trabajo de parto pretérmino son casi completamente desconocidos.

El parto pretérmino se encuentra frecuentemente asociado a diversas complicaciones obstétricas como ruptura prematura de membranas, infecciones corioamnióticas, infecciones de vías genitourinarias, óbito, enfermedad hipertensiva del embarazo y otras. Las complicaciones maternas que también pueden presentarse corresponden a malformaciones uterinas o enfermedades metabólicas sin un control adecuado.

Diversos estudios epidemiológicos han reportado una serie de factores asociados al nacimiento pretérmino, con los que se intenta predecir el riesgo, sin embargo, solamente el 40% de estos nacimientos presentan alguno de estos (3), aun más, a pesar de eliminar estas condiciones de riesgo en estudios prospectivos, no se

compartimientos (Cuadro 4-6)

La proporción de subpoblaciones de linfocitos en los diferentes compartimientos en todas las pacientes estudiadas fueron similares, excepto los linfocitos T activados en sangre de cordón los cuales demostraron estar significativamente elevados en los productos pretérmino

DISCUSION

El trabajo de parto pretérmino es una complicación frecuente y grave del embarazo y representa un problema de salud pública en el ámbito mundial. Su origen no ha sido determinado con exactitud, teniendo repercusiones importantes en el bienestar materno-fetal. El parto pretérmino es un problema de salud reproductiva responsable del 75 al 90% de las muertes neonatales no relacionadas a malformaciones congénitas letales(2,3) También representa una causa importante de morbilidad neonatal con efectos a corto y largo plazo, con una frecuencia de 10 -11% de todos los nacidos vivos.

Los mecanismos que desencadenan el trabajo de parto humano son pobremente entendidos y de manera análoga los que operan en el trabajo de parto pretérmino son casi completamente desconocidos.

El parto pretérmino se encuentra frecuentemente asociado a diversas complicaciones obstétricas como ruptura prematura de membranas, infecciones corioamnióticas, infecciones de vías genitourinarias, óbito, enfermedad hipertensiva del embarazo y otras. Las complicaciones maternas que también pueden presentarse corresponden a malformaciones uterinas o enfermedades metabólicas sin un control adecuado.

Diversos estudios epidemiológicos han reportado una serie de factores asociados al nacimiento pretérmino, con los que se intenta predecir el riesgo, sin embargo, solamente el 40% de estos nacimientos presentan alguno de estos (3), aun más, a pesar de eliminar estas condiciones de riesgo en estudios prospectivos, no se

ha logrado abatir su incidencia(3)

Existen diferentes teorías que intentan explicar la señal de iniciación del trabajo de parto en pacientes con embarazos a término, sin embargo ninguna de ellas representa un mecanismo universal, lo que hace posible la participación de diversas señales.

Los avances en el campo de la inmunología en los últimos 50 años han transformado el concepto inicial de un sistema de defensa del organismo, en un sistema coordinado y complejo que nos permite una mejor comprensión de los procesos fisiológicos y fisiopatológicos observados en el ser humano.

El embarazo representa un modelo de adaptación inmunológica, considerando que la unidad embrio-placentaria representa un aloinjerto en el que al menos la mitad de los antígenos son potencialmente reconocibles como extraños por las células inmunes de la madre. La explicación de la tolerancia inmunológica a los antígenos fetales se ha expandido con los años y actualmente se consideran diversos mecanismos de evasión de la respuesta inmune que ejecuta la placenta, por lo que parece lógico suponer que la iniciación del parto se deba a una pérdida del balance de las respuestas inmunológicas. Mosmann describió dos grupos diferentes de citocinas sintetizadas por los linfocitos T cooperadores (Th), que inducen diferentes funciones.

Recientemente se ha reconocido en el ratón, la existencia de una balance muy delicado en la red de señalización que coordina la función de los linfocitos, sobre todo en el ámbito de la interfase madre-producto. De hecho es a partir de este análisis que se ha reforzando el concepto de que existen dos tipos de expresión de funciones de linfocitos: Th1 y Th2. Las citocinas que promueven la función Th1 son la interleucina 2 (IL-2), el interferon gamma (IF- γ) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) que induce la actividad de las células asesinas naturales (NK). Esta es la red que se activa en la respuesta de rechazo a tejidos extraños y es antagonizada por la red Th2, que a su vez está conformada por la interleucina 4 (IL-4), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 10 (IL-10).

En el ratón, se ha demostrado que la placenta induce una función Th2 en el

entorno de contacto con la madre y que es característicamente inmunosupresora, por lo tanto promueve el mantenimiento del embarazo. Experimentalmente es posible alterar en el ratón este balance y si se induce la respuesta Th1, el embarazo termina en aborto espontáneo. Es muy probable que en el humano exista una réplica de este sistema que facilita o impide el embarazo.

Hasta el momento actual no se ha analizado el cambio en esta relación durante el trabajo de parto o su activación anormal durante el parto pretérmino, por lo que nuestro objetivo es determinar las características de los sistemas Th1 y Th2 en el entorno placentario antes y durante el trabajo de parto a término y pretérmino.

Debido a la ausencia de literatura reportada sobre estos aspectos, se decidió realizar un estudio piloto, en el cual se formaron 3 diferentes grupos, constituidos por pacientes con embarazos pretérmino y trabajo de parto, pacientes con embarazos de término y trabajo de parto y pacientes con embarazos de término sin trabajo de parto. Por consideraciones éticas no se incluyó un cuarto grupo con pacientes con embarazos pretérmino sin trabajo de parto

Los grupos se integraron con 5 pacientes cada uno, se compararon entre sí y no se encontraron diferencias demográficas entre sus integrantes. Llama la atención que las pacientes con parto pretérmino fue en 80% de los casos primigenias y el 20% con antecedente de un aborto. Lo que podría sugerir la presencia de un proceso de sensibilización por una primera exposición de antígenos extraños al sistema inmune materno, que puede conducir a la pérdida de la gestación o a su interrupción temprana. El sexo del producto fue masculino en el 100% de los casos de parto pretérmino, el significado biológico de este hallazgo desde una perspectiva inmuno-endocrina representa un eslabón que conduce a los mecanismos fetales que participan en el inicio del trabajo de parto. Lo anterior abre la posibilidad de establecer la presencia de una correlación entre la paridad, el antecedente de falla reproductiva y el sexo del producto con mecanismos inmunológicos que participan en el trabajo de parto pretérmino.

En lo referente al resultado obtenido durante la realización de citometría de flujo para cuantificar las diferentes subpoblaciones de linfocitos, observamos una diferencia estadísticamente significativa en los linfocitos activados en la sangre de

cordón en pacientes de parto pretérmino comparado con paciente con embarazo de término, lo que nos lleva a sugerir la existencia de una activación del sistema inmune que participa en el desencadenamiento del trabajo de parto en este tipo de pacientes. Nos llama la atención que a este nivel la diferencia es muy significativa, sin embargo los linfocitos activados en sangre materna o sangre retroplacentaria no muestran tal diferencia, de tal manera que nosotros pensamos que pudiera existir una participación activa del feto en el desencadenamiento del trabajo de parto, en contraste con el concepto clásico de que el sistema inmune del feto es inerte en estas etapas. Esto nos abre una nueva posibilidad para reconocer los factores que intervienen en el trabajo de parto pretérmino. Nuestros resultados son por el momento de un estudio piloto, por lo que consideramos necesario ampliar nuestra muestra y no perder de vista los aspectos anteriormente mencionados.

El resto de las cuantificaciones de linfocitos, no demostraron diferencias estadísticamente significativas

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en nuestro estudio sugieren la existencia de un mecanismo de origen inmunológico que participa en el desencadenamiento del trabajo de parto pretérmino y en el que la unidad feto-placenta interviene activamente

CONSIDERACIONES ETICAS

" Todos los procedimientos estarán de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud artículo 17, fracción II como de riesgo mínimo"

cordón en pacientes de parto pretérmino comparado con paciente con embarazo de término, lo que nos lleva a sugerir la existencia de una activación del sistema inmune *que participa en el desencadenamiento del trabajo de parto en este tipo de pacientes.* Nos llama la atención que a este nivel la diferencia es muy significativa, sin embargo los linfocitos activados en sangre materna o sangre retroplacentaria no muestran tal diferencia, de tal manera que nosotros pensamos que pudiera existir una participación activa del feto en el desencadenamiento del trabajo de parto, en contraste con el concepto clásico de que el sistema inmune del feto es inerte en estas etapas. Esto nos abre una nueva posibilidad para reconocer los factores que intervienen en el trabajo de parto pretérmino. Nuestros resultados son por el momento de un estudio piloto, por lo que consideramos necesario ampliar nuestra muestra y no perder de vista los aspectos anteriormente mencionados.

El resto de las cuantificaciones de linfocitos, no demostraron diferencias estadísticamente significativas.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en nuestro estudio sugieren la existencia de un mecanismo de origen inmunológico que participa en el desencadenamiento del trabajo de parto pretérmino y en el que la unidad feto-placenta interviene activamente.

CONSIDERACIONES ETICAS

“ Todos los procedimientos estarán de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud artículo 17, fracción II como de riesgo mínimo”

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. World Health Organization. The incidence of low birth weight: A critical review of available information. *World health Stat* 1980;33:197
2. Schlesinger ER, Allaway NC. The combined effect of birth weight and length of gestation on neonatal mortality among single premature births. *Pediatrics* 1995; 15:698.
3. Pritchard JA, Mac Donald PC; Grant NF. Eds. Preterm and postterm pregnancies and fetal growth retardation. *Obstetricia de Williams*. 17 Editorial Interamericana. 1990:1230.
4. Missouri Revised Statutes. Section 1993: 165.
5. Casey ML and Mac Donald PC. Human parturition: Distinction between the initiation of parturition and onset of labor. *Sem. Reproduc Endocrinol* 1993; 11: 2272-84
6. Friedman EA. Evolution of graphic analysis of labor. *Am. J Obstet Gynecol.* 1978; 26:279
7. Amon E, Reece EA, Hobbins JC, Mahoney MJ, Petrie RH. Premature labor. In *Medicine of the fetus and mother*. JB Lippincott Company, Philadelphia 1992.
8. Casey ML, Winkel LA, Porter JC and Mac Donald PC. Endocrine regulation of parturition. *Clin. Perinatol* 1983; 10:709
9. Cunningham FG, Mac Donald PC and Grant NF. *William Obstetrics*, 18 th de Norwalk, CT: Appleton and Lange, 1989
10. Casey ML and Mac Donald PC: Human parturition: Prostaglandins and cytokines are effectors of labor. In Mornex R, Jaffiol C, Lecrec (eds); *Progres in endocrinology: The proceedings of the ninth international congress of endocrinology*. London: Parthenon Publishing 1993.
11. Chardt: The role of the posterior pituitaries of mother and fetus in the spontaneous parturition. En Comile KS, Cross KW, Dawes GS (eds). *Fetal and neonatal physiology*. Cambridge, Cambridge University press, 1973. 579.
12. Keirse MJNC: Endogenous prostaglandins in human parturition. En Keirse

- M, Anderson A, Gravenhorst J (eds) Human parturition, The Hague, Netherlands: Martius Nyhooff publishers 1979; 101-142.
13. Chalis JRG, Olson DM, En Knobil E, Nellis J (eds): The physiology of reproduction, 2da, New York, Raven press 1988, 2177-2216.
14. Keirser MJNC, Tumbull AC. The fetal membranes as a posible soure of amniotic fluid prostaglandins, Br J Obstet Gynaecol 1976, 83.
15. Mac Donald PC, Porter JC, Shwartz BE, Johnston JM. Iniciation of parturition in the human female. semm Perinatol 1978; 2:273-286.
16. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. In Cellular and molecular immunology. 3De, W.B.Sounders Company . 1997
17. Roitt I. Inmunologia 7a edición. Madrid, Editorial médica panamericana 1994; 127-47.
18. Vadillo-Ortega F, González-Avila G., Karchmer S, Cruz NM, Ayal-Ruiz A, Selman-Lama M. Collagen metolisism in premature rupture of amniotic membranes. Obstet Gynecol; 1990.75.84
19. Casey ML, Cox SM, Beutler B, Milewich L, Mac Donald PC. Cachetin/tumor necrosis factor-alpha formation in human decidua: potencial role of cytokines in infection-induced preterm labor. J Clin Invest 1989; 83:436
20. Mosmann TR, Cioffman RL. TH1 and TH2 cells: Diferent patterns of lynfokyne secretion lead to diferent functional proprieties Ann Rev Inmunol 1989; 7:145-73.
21. Rogmanani S. Short analytical review Th1 and Th2 in human diseases. Clin Immunol Immunopathol 1996; 80:225
22. Romani S Lynfokyne production by human T cell in disease sattes. Annu. Rev. Inmunol 1994; 12.227-57
23. Wegmann TG, Lin H, Gilbert L, Mosmann TR. Bidirectional citokine interactions in the maternal fetal relationship: Is succesful pregnancy a TH2 phenomanon?. Inmunol Today 1993, 14: 353-56

24. Wood GW. Is restricted antigen presentation the explanation for fetal allograft survival?. Immunol Today 1994; 15:15-18.

25. Clark DA, Chaouat G, Mogil R, Wegman TG: Prevention of spontaneous abortion in DBA/2-mated CBA/j mice by GM-CSF involves CD8+ T cell -dependent supresion of natural efector cell citotoxicity against trophoblast target cell Cell Immunol 1994, 154:143-53.

26. Mosmann TR. Properties and Fuctions of Interleukin 10. Adv Immunol 1994; 56: 1-26.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

México DF. a _____ de _____ de 199 _____

PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO" Balance de las respuestas TH1/TH2 en la interfase placentaria durante el trabajo de parto normal y pretérmino".

Por medio de la presente
yo _____

Declaro libremente que estoy de acuerdo en participar en esta investigación cuyos objetivos, procedimientos y riesgos se especifican a continuación en este documento. El estudio tiene como objetivos conocer las subpoblaciones de linfocitos en la interfase placentaria durante el trabajo de parto normal y pretérmino. Mi participación consiste en autorizar el análisis de muestras de sangre periférica (10 ml=, de cordón umbilical y de placenta. Extraídas por venopunción en el caso de la primera y por drenado del cordón y de placenta una vez que mi hijo haya nacido en los otros dos casos. Sé también que los riesgos para mi salud y para la de mi hijo son mínimos.

Se me ha informado que la participación en este estudio, no repercutirá en el costo de la atención médica que se me deba brindar y que toda la información que se obtenga sobre mi identidad y participación, será confidencial, excepto cuando yo lo autorice

Se me ha informado también que puedo retirar mi consentimiento de participación en cualquier momento, sin que esto afecte la atención médica que requiero.

Para los fines que se estimen convenientes, firmo la presente junto con la investigadora Dra Ana Lucia Martínez Cermeño, quien me informa y dos testigos

Participante _____

Investigador _____

Testigo 1 _____

Testigo 2 _____

PACIENTE	EDAD	SDG*	PARIDAD	RESOLUCION	INDICACION	SEXO	PESO		APGAR		SA**	
							1300	NO VALORABLE	NO VALORABLE	4-3	NO VALORABLE	NO VALORABLE
1	22	28.5	G1	CESAREA	PELVICO	M***	1300					7
2	28	28	G1	PARTO		M	2175		4-3			
3	19	33.4	G1	PARTO		M	2000		7-8			0
4	18	30.4	G1	CESAREA	PRETERMINO	M	2000		7-8			0
5	26	32.4	G2A1	PARTO		M	1000		6-8			1
PROMEDIO	22.6	30.5					1695					
D.S.	4.3	2.3					513.6					

* SDG: SEMANAS DE DESARROLLO GESTACIONAL

** SA: SILVERMAN ANDERSON

***M: MASCULINO

PACIENTES CON EMBARAZO DE TERMINO Y TRABAJO DE PARTO

PACIENTE	EDAD	SDG*	PARIDAD	RESOLUCION	INDICACION	SEXO	PESO	APGAR	SA**
1	35	38.5	G1	CESAREA	EXP. PROL.	M***	3700	8-9	0
2	21	40.4	G2 C1	PARTO		F****	3300	8-9	0
3	19	39	G2 A1	PARTO		M	3000	9-9	0
4	24	40.5	G2 C1	PARTO		F	3350	7-7	0
5	32	40	G2 P1	PARTO		F	3100	8-9	0
PROMEDIO	26.2	39.6					3290		
D.S.	6.9	0.8					270.1		

* SDG: SEMANAS DE DESARROLLO GESTACIONAL

** SA: SILVERMAN ANDERSON

***M: MASCULINO

****F: FEMENINO

PACIENTES CON EMBARAZO DE TERMINO Y SIN TRABAJO DE PARTO

PACIENTE	EDAD	SDG*	PARIDAD	RESOLUCION	INDICACION	SEXO	PESO	APGAR	SA**
1	25	40.3	G3 P1 A1	CESAREA	SFA	M***	3000	8-9	0
2	22	40	G2 C1	CESAREA	DPPNI	M	3000	8-9	0
3	19	39	G1	CESAREA	DCP	F****	2450	9-9	0
4	27	39.5	G1	CESAREA	DCP	M	3200	8-9	0
5	29	40	G2 C1	CESAREA	DCP	M	3400	8-9	0
PROMEDIO	24.3	39.7					3010		
D.S.	3.9	0.51					354.2		

* SDG: SEMANAS DE DESARROLLO GESTACIONAL

** SA: SILVERMAN ANDERSON

***M: MASCULINO

****F: FEMENINO

SUBPOBLACIONES DE LINFOCITOS EN SANGRE MATERNA

SANGRE MATERNA	COOPERADORES	CITOTÓXICOS	LINFOCITOS B	ACTIVADOS	NK
CONTROL	1410+/-418	1424+/-194	380+/-84	333+/-298	546+/-396
TERMINO	1300+/-450	1327+/-198	466+/-176	275+/-99	357+/-248
PRETERMINO	1346+/-254	1440+/-444	503+/-268	478+/-284	545+/-197

SUBPOBLACIONES DE LINFOCITOS EN SANGRE DE CORDON

SANGRE MATERNA	COOPERADORES	CITOTOXICOS	LINFOCITOS B	ACTIVADOS	NK
CONTROL	1826+/-494	920+/-132	453+/-300	28+/-10	548+/-482
TERMINO	1056+/-376	1022+/-318	370+/-160	21+/-13	766+/-421
PRETERMINO	1663+/-458	1062+/-358	344+/-180	370+/-245*	794+/-381

* P < 0.05

SUBPOBLACIONES DE LINFOCITOS EN SANGRE RETROPLACENTARIA

SANGRE MATERNA	COOPERADORES	CITOTOXICOS	LINFOCITOS B	ACTIVADOS	NK
CONTROL	1131+/-438	1306+/-436	286+/-187	272+/-280	629+/-366
TERMINO	1081+/-180	1283+/-423	300+/-273	272+/-280	858+/-515
PRETERMINO	1031+/-376	1628+/-331	407+/-152	772+/-427	779+/-106