



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

11217

180

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA

“ POLIMORFISMO DE INTERLEUCINA-1 BETA E INFECCIÓN CERVICO VAGINAL ASOCIADOS CON RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS Y PARTO PRETERMINO ”

DR. J. ROBERTO AHUÉ AHUÉ

DIRECTOR GENERAL

PROFESOR TITULAR

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA ESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA



DIRECCION DE ENSEÑANZA

P R E S E N T A :

DRA. IRMA LETICIA VÁZQUEZ FERNÁNDEZ

ZB

ASESORES :

DR. CÉSAR ÁNGEL HERNÁNDEZ GUERRERO  
DR. CARLOS RAMÍREZ IZARRARAS

[Firma]



MÉXICO, D.F.

[Firma]

2003.

1

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

**TESIS  
CON  
FALLA DE  
ORIGEN**

# PAGINACIÓN DISCONTINUA

**A DIOS**

*por dejarme realizar mis sueños*

**A MIS PADRES Y HERMANAS**

*por su ejemplo y apoyo incondicional*

**A mi esposo JUAN CARLOS**

*por su amor, paciencia y apoyo en los momentos más difíciles*

**A LA FAMILIA MORENO LOPEZ ORTEGA**

*por abrírmelo sus brazos y convertirse en mi segundo hogar*

**A MIS AMIGOS**

*por convertirse en un apoyo incondicional durante todos estos años y haber forjado lazos sinceros y desinteresados*

**A MIS MAESTROS**

*por todas sus enseñanzas y ejemplo que me permitirán el recto ejercicio de la profesión*

**A CESAR HERNANDEZ**

*por su ayuda, paciencia y por todo el tiempo que me brindó para culminar este proyecto*

**AL INPER Y SUS PACIENTES**

*por darme todos los medios para adquirir los conocimientos tanto médicos como humanos y las habilidades necesarias para ser un especialista exitoso*

A todos ellos

**GRACIAS**

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

2

## INDICE GENERAL

Indice general.....	i
Indice de tablas .....	ii
	Pág
I. Introducción.....	1
Antecedentes .....	3
Planteamiento del problema.....	9
Objetivos.....	11
Hipótesis.....	12
Justificación.....	12
II. Material y método.....	13
II.1 Criterios de inclusión y exclusión.....	14
Definiciones operativas.....	14
II.2 Obtención del producto biológico.....	15
II.3 Variables del estudio.....	17
III. Resultados .....	19
IV. Discusión.....	27
V. Conclusiones.....	33
VI. Bibliografía.....	34

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## INDICE DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Características generales.....	20
Tabla 2. Frecuencia de IL1B*1 y 2.....	21
Tabla 3. Frecuencia de IL1B*1 y 2 con RPM.....	22
Tabla 4. Frecuencia de <i>G VAGINALIS</i> en relación con IL1B*1-2.....	23
Tabla 5. Frecuencia de <i>G VAGINALIS</i> con RPM.....	24
Tabla 6. Relación de <i>Candida spp</i> con RPM.....	25
Tabla 7. Relación de <i>Candida albicans</i> con RPM.....	26

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## I. INTRODUCCION

Se designa ruptura prematura de membranas (RPM), como la salida de líquido, amniótico a través de una solución de continuidad de las membranas ovulares en embarazos mayores de 20 semanas y por lo menos dos horas antes de la iniciación del trabajo de parto <sup>(1)</sup>. Es una complicación que con frecuencia precede al parto pretérmino y presenta numerosos aspectos clínicos, en cuanto al momento y a la forma de nacimiento, así como el tratamiento coadyuvante. Es por esto que esta entidad patológica tiene una gran importancia.

La frecuencia de esta patología oscila entre el 10% de todos los embarazos, ocasionando un problema de salud pública. Se desconoce con exactitud las causas que condicionan la aparición de esta patología, sin embargo, existen múltiples estudios en donde se confirma que la infección es uno de los factores más comunes, debido a la presencia de moléculas proinflamatorias, las cuales se encuentran presentes en los mecanismos que desencadenan el trabajo de parto en un embarazo a término <sup>(2)</sup>.

La importancia de la ruptura prematura de membranas radica, como mencionamos anteriormente, en que, se relaciona en muchas ocasiones con productos pretérmino y los enfoques obstétricos del nacimiento pretérmino, tradicionalmente se han centrado en las intervenciones terapéuticas, más que en la identificación temprana de las mujeres expuestas a ese riesgo y la prevención del trabajo de parto pretérmino (PP). Sin embargo múltiples

científicos han enfatizado la potencial importancia de la identificación temprana de las mujeres expuestas al riesgo de un nacimiento pretérmino <sup>(9)</sup>; es por esto que se desarrolla el presente protocolo.

Es sabido que la infección cervicovaginal es un factor de riesgo, sin embargo, no todas las pacientes con infección desarrollarán ruptura prematura de membranas. Se ha relacionado la presencia de agentes biológicos que condicionan a un aumento de citocinas proinflamatorias, como por ejemplo la IL-1beta, la cual es producida por diferentes estirpes celulares como son: monocitos, macrófagos, el corion, el amnios, la decidua, y estas a su vez provocan la ruptura prematura de membranas, debido a una activación de numerosas cascadas inflamatorias.

El presente protocolo analizará la presencia de cervicovaginitis en pacientes embarazadas, determinando mediante cultivos la presencia de diversas estirpes bacterianas involucradas con RPM y se determinará el polimorfismo de las citocina inflamatoria (IL-1Beta), la cual se ha descrito que presenta una diferente capacidad de respuesta ante estímulos similares.

Englobando lo mencionado en los párrafos anteriores, podremos seleccionar a las pacientes con mayor riesgo de presentar RPM y de esta manera poder tener una mayor vigilancia del embarazo en este grupo.

## ANTECEDENTES

Ya en 1950 se observó una intensa reacción inflamatoria en el sitio de membranas rotas en forma prematura, y esto era sugestivo de una infección. Mcgregor en 1987 demostró que la exposición In Vitro a proteasas bacterianas reducía la carga para romper las membranas ovulares <sup>(4)</sup>. Por lo tanto, los microorganismos que logran acceder a las membranas pueden causar la ruptura de las mismas, el trabajo de parto pretérmino o ambas cosas.

La RPM aumenta la morbimortalidad materna a expensas de la infección. La frecuencia y gravedad de esta se encuentra estrechamente vinculada con la duración del periodo de latencia. Cuando el mismo supera las 24 horas, el riesgo se incrementa considerablemente. También eleva la morbimortalidad perinatal. Este riesgo, que en la ruptura prolongada es aún más alto, depende fundamentalmente de:

1.- Inmadurez: el principal factor determinante de la morbimortalidad neonatal, es la inmadurez del recién nacido, que se exterioriza fundamentalmente por la enfermedad de membrana hialina. En la mayoría de los casos, la RPM determina una anticipación del momento del parto (20%), con el consiguiente nacimiento de un producto que no ha completado su maduración.

2.- Infección: El riesgo de que el producto presente esta complicación aumenta proporcionalmente con la duración del periodo de latencia. Según algunos autores, pasadas las 24 horas las cifras oscilan entre el 5-25% de los casos <sup>(5)</sup>,

3.- Accidentes del Parto: Entre ellos se encuentran prolapso de cordón, prolapso de partes fetales, entre otros.

Es común observar que en condiciones maternas y fetales similares las membranas se pueden comportar en forma muy variable, en cuanto al momento de su ruptura espontánea. La ruptura puede ocurrir a cualquier edad gestacional, sin que haya comenzado el trabajo de parto o en cualquier momento del mismo. Se sabe que la elasticidad de las membranas varía muy poco de un lugar a otro del saco ovular, que el momento de la ruptura es tan variable que indica que su resistencia al estiramiento varía mucho de un caso a otro, también es sabido que no hay correlación entre la tensión-presión fisiológica o patológica a que las membranas están sometidas durante el embarazo y la ruptura <sup>(6)</sup>. Todo esto hace pensar que en la mayoría de los casos la ruptura es el resultado de una debilidad inherente a las membranas por sí mismas, generalmente de causa desconocida.

Se han descrito tres mecanismos fisiopatológicos de la ruptura espontánea de membranas:

1) por alteración de la estructura de las membranas cervicales,

- 2) por deformación y estiramiento del orificio cervical,
- 3) mecanismo de formación y ruptura de dos sacos ovulares.

Diversos factores están implicados en la patogénesis de la RPM, pero no se ha podido demostrar convincentemente cual es su causa. Se ha propuesto que puede ser una menor resistencia de las membranas corioamnióticas o bien por el aumento de la presión intrauterina o por ambos, esto conlleva a una reducción de la resistencia de las membranas, las cuales pueden perder su fuerza tensil por efecto de proteasas bacterianas, otro producto del metabolismo bacteriano o por distensiones repetidas debidas a las contracciones uterinas. Las membranas debilitadas por cualquiera de estos mecanismos podrían romperse bajo el efecto de una presión normal.

La consecuencia de las contracciones uterinas sobre la resistencia de las membranas no parece ser tan directa como el efecto de la infección. Lavery y colaboradores demostraron que la actividad uterina provoca un endurecimiento por tensión sobre las membranas, seguido del desarrollo de grietas microscópicas que reducen la capacidad para tolerar aumentos normales de presión.

De todas las causas por las que ocurre la RPM, la infección bacteriana tiene más probabilidades de originar la terminación del embarazo. En pacientes con

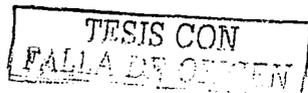
TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

RPM se ha encontrado que hasta en 40% tienen el diagnóstico de corioamnioitis y 70% cumplen con criterios histopatológicos del proceso <sup>(6)</sup>.

Como ya se había mencionado la infección local es una de las etiologías probables de la ruptura prematura de membranas. Las madres que presentan colonización del tracto genital por *Tricomonas*, microorganismo del grupo de los *Streptococos* beta, *N.gonorrhoeae*, y *C.trachomatis*, muestran una mayor incidencia de RPM que aquellas con cultivos negativos. De este hecho se deduciría que la infección local debilita las membranas cervicales.

La incidencia de RPM depende de la edad gestacional en que se presente, aunque también difiere en las publicaciones existentes. Según la ACOG, la RPM en los embarazos de término se presenta en alrededor de 10%.

En el INPer su incidencia es del 9.8%. En las gestaciones de menos de 37 semanas la incidencia disminuye hasta 1-4%. El parto pretérmino complica el 10% de los embarazos en Estados Unidos y es el responsable del 75 al 80% de la mortalidad perinatal. De los nacimientos pretérmino la RPM está presente en el 40 al 50% de los casos. En los embarazos de término con RPM el 90% se resolverá en las próximas 24 hrs y en los pretérmino el 90% en la semana siguiente a la RPM.



Se ha observado que el desequilibrio de la flora vaginal puede asociarse con RPM. Muchos investigadores han demostrado mediante estudios microbiológicos de amnios y corion después del parto la asociación de RPM con agentes infecciosos. Kundsén y cols demostraron como agente más frecuente al ureaplasma *urealyticum* en parto pretérmino con o sin RPM. Hiller y cols encontraron además como otros agentes a la *Gardnerella vaginalis*, *Micoplasma hominis*, *Mobiluncus sp.*, *Prevotella sp.*, *Peptostreptococcus sp* y *Streptococo* del grupo B, en el 66% de los casos de parto pretérmino en comparación con 21% de las mujeres con partos a término. Se debe tomar en cuenta a otros agentes como *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Micoplasma hominis*, *Trichomona vaginalis* y otros procesos patológicos como la vaginosis bacteriana. Galsk y cols en 1984 demostraron que dos microorganismos participan por lo general en la corioamnionitis, el *Streptococo agalactidae* y la *Escherichia coli*, estos agentes se unen a las membranas, las invaden y atraviesan, además encontraron que las membranas sanas, sin sustrato para impulsar la actividad biológica no se debilitaron por la sola presencia de bacterias, lo que indica una participación del huésped. Con la presencia de bacterias se forman productos intermedios como radicales libres, que causan destrucción local de tejidos, necrosis y rotura de enlaces peptídicos en la colágena, generando un ácido, el cual desestabiliza las membranas lisosomales endógenas y potencializa la eficacia de las bacterias para desactivar las inmunoglobulinas A y G, en el moco cervical <sup>(7-8)</sup>. El amnios puede reaccionar a las bacterias con la producción de citocinas, las cuales son introducidas al medio por leucocitos polimorfonucleares.

La reacción leucocitaria, se ha comprobado que es de origen fetal <sup>(9-10)</sup>. Estos leucocitos producen IL-1 beta en una cantidad mayor que las células adultas, haciendo que las células amnióticas produzcan prostaglandina E2, la cual es un potente oxitócico, con el incremento de la actividad uterina consiguiente por lo tanto se hace mas probable la producción de RPM <sup>(11)</sup>.

Se han postulados otras etiologías como el consumo de tabaco, la deficiencia vitamínica principalmente de Zinc, vitamina C, cobre, etc. También se ha asociado a la hemorragia uterina del primer o segundo trimestre, cirugía cervical e incompetencia cervical, sobredistensión uterina y coito, puntos que no tocaremos a fondo en este escrito ya que nos enfocaremos al factor infeccioso. Debido a todo lo anterior se han realizado múltiples estudios tratando de determinar la etiología de la RPM. El presente protocolo propone que existe una relación directa entre la capacidad de respuesta y producción de citocinas proinflamatorias debido a la presencia de infección cervicovaginal que producirá RPM, específicamente el polimorfismo de la interleucina 1beta <sup>(12)</sup>.

La interleucina 1 antes conocida como pirógeno endógeno, factor activador de linfocitos y catabolina, es sintetizada por una gran cantidad de células, (endoteliales, linfocitos B, fibroblastos), pero fundamentalmente por monocitos macrófagos. Esta citocina promueve la activación de linfocitos T y B y participa en la respuesta inflamatoria mediando la síntesis de prostaglandinas, enzimas

degradativas (colagenasas). A nivel hipotalámico aumenta la temperatura corporal, así como la liberación de proteínas de fase aguda por parte del hígado.

Para el caso de IL-1beta se ha descrito la existencia de un gen polimórfico, representados por dos alelos identificados por la presencia o ausencia de un sitio de restricción para la enzima Ataq1 en la posición +3953 del gen, que codifica diferente capacidad de síntesis de la proteína. Para el caso del alelo que presenta ausencia del sitio de restricción, denominado alelo 2, se ha documentado una mayor capacidad de síntesis de la proteína, en comparación con la síntesis mostrada cuando se encuentra el alelo 1 del gen. Estudios realizados mediante cultivo *in vitro* de monocitos que muestran el genotipo homocigoto para el alelo 2 de IL - 1Beta y son estimulados con LPS, expresan un valor mayor de síntesis de la proteína ( más de 400%) en comparación con aquellos que manifiestan el genotipo heterocigoto y homocigoto para el alelo 1 de la citocina en cuestión <sup>(13)</sup>.

## **Planteamiento del Problema.**

La presencia de agresiones bióticas en el tracto cervico/vaginal durante el embarazo, es capaz de estimular a diferentes estirpes celulares tanto inmunológicas como de la interfase materno-placentaria, para que se aboquen a la producción de citocinas inflamatorias involucradas en mecanismos de defensa del hospedero, que a su vez median la activación de diversos mecanismos de degradación de componentes de la matriz extracelular del corioamnios. La presencia de alelos de alta respuesta de Interleucina- 1 beta, en mujeres embarazadas bajo la agresión bacteriana, puede mediar una respuesta exacerbada en cuanto a la producción de esta citocina, lo que es capaz de provocar la activación de los mecanismos de ruptura de la membrana amniótica en forma prematura.

## OBJETIVO GENERAL

Determinar la relación entre la presencia de agentes patógenos y el polimorfismo de la Interleucina 1Beta, en un estudio longitudinal de mujeres embarazadas y la relación con la aparición de ruptura prematura de membranas.

## OBJETIVOS ESPÉCIFICOS

1. Determinar la presencia por cultivo de *ureaplasma urealiticum*, *micoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia*, *Candida*, *estreptococo grupo B*, a partir de exudado cervicovaginal en el grupo antes señalado.
2. Determinar la presencia del gen polimórfico en la posición +3953 de IL-1beta mediante técnica PCR.
3. Correlacionar la presencia de agentes bacterianos patógenos, el polimorfismo genético y la aparición de RPM.

## **HIPOTESIS**

Existe relación significativa entre la presencia de infección cervico-vaginal identificada en la mitad de la gestación, en asociación con la presencia del alelo 2 (de alta respuesta) de la citocina IL-1 beta y la aparición de RPM y parto pretérmino.

## **JUSTIFICACION**

Debido a la alta incidencia de la ruptura prematura de membranas de hasta un 32%, es necesario conocer el grupo de pacientes que se encuentran en riesgo de tener un parto pretérmino. El presente estudio pretende centrar algunas de las bases científicas para comprender mejor la etiopatogenia de la ruptura prematura de membranas para poder brindar un mejor manejo tanto para las madres como para los productos.

## **II. MATERIAL Y METODOS**

### **DISEÑO DEL ESTUDIO**

**TIPO DE INVESTIGACIÓN:** observacional

**TIPO DE DISEÑO:** cohorte

### **CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO:**

Se trata de un estudio longitudinal, analítico y prospectivo.

#### **POBLACIÓN**

**GRUPO DE ESTUDIO:** Se incluirán a las mujeres que acudan a valoración de primera vez en la consulta externa del INPer, quienes cursen con un embarazo a cualquier semana de gestación, y presenten datos clínicos de cervico-vaginitis; que acepten participar en el protocolo, que hayan sido informadas y firmen carta de consentimiento. Se tomará la muestra y se determinarán las características de la resolución dirigiendo la búsqueda hacia RPM. La primera toma se realizará al momento de la apertura de expediente.

#### **II.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Embarazo único
- Embarazo acorde a la clínica
- Se incluirán todas las edades.

- Datos clínicos de cérvico vaginitis al momento de la realización de la historia clínica.

#### **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- Embarazo gemelar
- Pacientes con cardiopatía, diabetes mellitus, hipertensión crónica, Lúpicas, enfermedades autoinmunes, o inmunodepresión.
- Pacientes que no deseen ingresar a este protocolo

#### **DEFINICIONES OPERATIVAS**

RPM Se define como la salida de líquido amniótico a través de una pérdida de solución de continuidad de las membranas corioamnióticas, a partir de la semana 20. El diagnóstico se puede realizar por múltiples técnicas desde la exploración física (Tarnier y valsalva), prueba de la nitrazina, prueba de la cristalización, prueba de Ianneta, fluorescencia intraamniótica, prueba de la diaminoxidasa, fibronectina fetal, prueba de alfafetoproteína, amnioscopia y USG (14).

TRABAJO DE PARTO: Es la presencia de actividad uterina, es decir contracciones uterinas aumentadas en frecuencia, intensidad y duración que se acompaña con modificaciones cervicales.

EDAD GESTACIONAL: Se calculará a partir de la FUM, o en su defecto por medio de USG.

## II.2 OBTENCIÓN DEL PRODUCTO BIOLÓGICO

Durante la revisión de primera vez, previo a la toma de papanicolaou, se realizará toma de cultivo cervicovaginal. Se colocará a la paciente en posición de litotomía, se colocará espejo vaginal sin gel, con hisopos se tomarán varias muestras desde el orificio cervical externo pasando por paredes vaginales, los hisopos se colocarán en los distintos medios de cultivos para que sean transportados y estudiados en el laboratorio de bacteriología del departamento de Infectología e Inmunología perinatal, ultramicroscópica electrónica.

El examen completo de la paciente será el siguiente:

1. Examen clínico e historia clínica completa.
2. Pruebas de laboratorio: exudado cervico vaginal para cultivo de secreciones con búsqueda selectiva de *ureaplasma urealiticum*, *chlamidia trachomatis*, *gardnerella vaginalis*, *Candida albicans*, *micoplasma hominis*, *trichomona vaginalis*, *Streptococo del grupo B*. Si resultara positivo alguno de estos cultivos se seguirá con la identificación del serovar específico, su crecimiento y formación de un cepario.

3. Examen en fresco para identificar vaginosis bacteriana, *Trichomona vaginalis* y *Gardnerella vaginalis*.
4. Biometría hemática completa con diferencial.
5. Purificación de leucocitos de 5ml de sangre venosa periférica de la misma toma de BH para purificación de DNA.
6. Identificación de los polimorfismos de los genes de IL 1beta.

### IDENTIFICACIÓN DE POLIMORFISMO DE IL 1BETA

La identificación de los alelos de las citocinas IL 1beta será llevada a cabo mediante técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Muestras de leucocitos periféricos y membranas amnióticas, serán empleadas para obtener DNA, utilizando el reactivo comercial DNAzol. La identificación de los alelos de esta citosina, se basa en la amplificación de un segmento de DNA de 182 pares de bases, que incluyen la posición +3953 del gen. Al estar presente el alelo 1, el sitio de restricción para la enzima Ataq 1 aparece en el producto de amplificación. Por otro lado; si el genotipo corresponde a la presencia del alelo 2, el producto de DNA amplificado carecerá del sitio de restricción para la enzima Ataq1.

Los productos de amplificación obtenidos por técnica de PCR, son colocados en condiciones óptimas de actividad enzimática durante 24 horas con la enzima Ataq 1. Al término de la digestión, el DNA es separado en

geles de acrilamida al 8% determinando la presencia del alelo 1 de la citosina, por identificación de dos segmentos de DNA; uno de 97 Pb y otro de 85Pb debido a la acción endonucleotídica llevada a cabo por la enzima Ataq.

1. De estar presente el alelo 2, se observa la presencia de un fragmento de DNA de 182 Pb, ya que no está presente el sitio de restricción para la mencionada enzima, por lo que el DNA no es escindido.

### **II.3 VARIABLES EN ESTUDIO**

#### **VARIABLE INDEPENDIENTE**

1. Alelos de IL 1beta

#### **VARIABLES DEPENDIENTES**

1. Presencia o ausencia de agentes patógenos en cultivo de fluido cervicovaginal.
2. Presencia de RPM
3. Latencia de RPM

### **CALCULO DE LA MUESTRA**

Se estimó el tamaño de la muestra según la prueba de hipótesis para diferencia entre dos proporciones con un poder de prueba del 10% y un nivel alfa de 0.05.

Las mujeres con RPM tendrán una frecuencia del alelo polimórfico 2 de IL 1beta igual o mayor a 20%; el doble con respecto al valor de frecuencia observado en mujeres embarazadas que presentan embarazos normales a término.

$$n = [z \sqrt{1-\alpha} \sqrt{P_1(1-P_1) + P_2(1-P_2)}] / (P_1 - P_2)$$

$$n = [1.96 \sqrt{0.1(0.9)} + 1.282 \sqrt{0.20(1-0.2)} + (1-0)] / (0.2-0)$$

$$n = (1.8314 + 0.5128) / 0.04$$

$$n = 1.8069 / 0.04 = 46 \text{ pacientes por grupo}$$

Debido a la fórmula anterior será necesario incluir 460 mujeres en la cohorte para alcanzar el valor estimado. Podremos incluir 60 mujeres por mes, por lo que la duración del protocolo será de un año consignando alrededor de 700 mujeres.

### III. RESULTADOS

Durante el periodo de estudio se recabaron un total de 120 muestras de cultivo cervicovaginal y de sangre, de las cuales solamente 101 fue posible su seguimiento hasta la resolución del embarazo. Para el análisis estadístico las dividimos en 3 grupos: 1. pacientes quienes tuvieron parto a término, 2. pacientes con parto pretérmino y 3. pacientes quienes tuvieron ruptura prematura de membranas. Las características generales y obstétricas de las pacientes se muestra en la tabla 1, en donde podemos ver que en cuanto a la edad de las pacientes, número de embarazos, partos, abortos y cesáreas no se observó diferencia estadísticamente significativa, por el contrario, en cuanto a las semanas de resolución, que fue desde la semana 32 a la 38 en promedio, y peso del producto al nacimiento el cual fue de 1946-3085g en promedio, se obtuvo una  $P < 0.05$ , lo cual es esperado de acuerdo a la semana de resolución del embarazo.

**Tabla 1.** Características generales y obstétricas de los grupos de estudio.

Característica	Parto a Término	Parto Pretérmino	RPM	Significancia
Edad* (años)	25.1 (14-46)	26.1 (15-40)	24.7 (14-40)	P = 0.722
Embarazo <sup>1</sup>	2 (0-8)	3 (1-8)	1 (1-4)	P = 0.102
Parto <sup>1</sup>	0 (0-7)	0 (0-4)	0 (0-2)	P = 0.354
Aborto <sup>1</sup>	0 (0-3)	0 (0-7)	0 (0-3)	P = 0.411
Cesárea <sup>1</sup>	0 (0-2)	0 (0-2)	0 (0-2)	P = 0.818
Edad Gestacional al Nacimiento del Producto (semanas)*	38.8 (37-41)	32.3 (21-36)	36.3 (30-39)	P = 0.001
Peso del producto Al nacimiento (g)*	3085 (1400-4190)	1946 (375-3590)	2669 (760-3930)	P = < 0.001

\*Datos mostrados en valor promedio con límites en paréntesis. <sup>1</sup>Datos mostrados en mediana, con límites en paréntesis. Todos los valores comparados con Mann-Whitney Rank Sum Test

Se encontró que la IL1B\*1 (homocigoto) se encuentra con mayor frecuencia, 80.3% de las pacientes que tuvieron parto a término comparado con solo un

52.9% de las que tuvieron parto pretérmino, con una  $P=0.0086$ , y que tiene, por así decirlo un factor protector para esta complicación con una relación de momios de 0.41 (IC=0.17-0.98), cabe mencionar que no existió paciente con homocigocidad para el alelo 2. Se demostró que las pacientes que tienen IL1B\*2 (heterocigoto) tienen 3.6 veces mas riesgo de presentar parto pretérmino con una  $P=0.045$  (Tabla 2). Si se analiza únicamente por alelo encontramos una  $P=0.07$  la cual es limítrofe aunque con una relación de momios de 2.39 con un intervalo de confianza de 1.02-5.61, esto quiere decir que existe mayor riesgo de presentar parto pretérmino cuando se tiene este alelo.

**Tabla 2.-** Frecuencia, análisis y diferencia estadística de IL1B\*1 e IL1B\*2, en grupo de casos y testigo.

	Pretérmino (%)	A término (%)	$\chi^2$ (Significancia)	Relación de Momios (I.C. 95 %)
<b>IL1B*1 homocigoto (1:1)</b>	52.9 (9/17)	80.3 (53/66)	6.9 (0.0086)	0.27 (0.089 – 0.853)
<b>Por alelo 1</b>	67.6 (23/34)	83.3 (110/132)	5.21 (0.022)	0.41 (0.17-0.98)
<b>IL1B*2 heterocigoto (1:2)</b>	47.1 (8/17)	19.7 (13/66)	4.0 (0.045)	3.6 (1.17 – 11.20)
<b>Por alelo 2</b>	32.4 (11/34)	16.7 (22/126)	3.24 (0.07)	2.39 (1.02 – 5.61)

Análisis estadístico realizado mediante prueba Chi cuadrada.

Por otro lado al comparar la presencia de RPM y parto a término ante la presencia de IL1B\*1 y 2 en ninguno se encontró algún dato con significancia estadística. (Tabla 3), cabe mencionar que aunque existe 2.32 veces de mas

riesgo de presentar RPM para las pacientes que tienen la IL1B2 tuvieron una  $P = 0.19$  y un intervalo de confianza de 0.80-6.72, lo cual no es concluyente.

**Tabla 3.-** Frecuencia, análisis y diferencia estadística de IL1B\*1 e IL1B\*2, en grupo de casos y testigo.

	RPM (%)	A término (%)	$\chi^2$ (Significancia)	Relación de Momios (I.C. 95 %)
<b>IL1B*1 homocigoto (1:1)</b>	91 (20/22)	80.3 (53/66)	0.79 (0.06)	0.42 (0.14 – 1.23)
<b>Por alelo 1</b>	95.4 (42/44)	83.3 (110/132)	2.1 (0.14)	0.60 (0.26-1.36)
<b>IL1B*2 heterocigoto (1:2)</b>	9.0 (2/22)	19.7 (13/66)	1.68 (0.19)	2.32 (0.80 – 6.72)
<b>Por alelo 2</b>	4.6 (2/44)	16.7 (22/126)	1.0 (0.31)	1.66 (0.73 – 3.79)

Análisis estadístico realizado mediante prueba Chi cuadrada.

Uno de los objetivos de este estudio era determinar la presencia de algún agente patógeno que condicionara la presencia de RPM. Al analizar a las mujeres infectadas con *G vaginalis* que tuvieron parto pretérmino, no encontramos significancia estadística en ninguno de los grupos con IL1B\*1 o 2, esto debido probablemente al número limitado de pacientes. Tampoco se encontró diferencia al compararlo con las pacientes que tuvieron cultivos negativos.

**Tabla 4.-** Mujeres portadoras de alelos IL1B\*1 o IL1B\*2 en relación a la aparición de parto pretérmino, con cultivo positivo para *G. vaginalis*.

<i>G. vaginalis</i>	1:2	1:1	Total	$\chi^2$ (Significancia)	Relación de Momios (I.C. 95 %)
Pretérmino (+)	2	2	4	0.029 (0.86)	1.6 (0.16-15.27)
Pretérmino (-)	5	8	13	0.98 (0.32)	0.62 (0.065-5.96)
Total	7	10	17	—	—

Análisis estadístico realizado mediante prueba Chi cuadrada. N.D. No determinado

Al comparar la presencia de *G vaginalis* y RPM encontramos que solo 2 pacientes de 22 tuvieron esta complicación, aunque esto no es estadísticamente significativo ya que tiene una  $P > 0.05$ . En cuanto a los alelos encontramos 2 pacientes con 1:2 y 5 con 1:1 con una  $\chi^2$  y relación de momios no concluyentes.

(Tabla 5)

**Tabla 5.-** Mujeres portadoras de alelos IL1B\*1 o IL1B\*2, en relación a la aparición de ruptura prematura de membranas, con cultivo positivo para *G. vaginalis*.

<b>G. <i>vaginalis</i></b>	<b>1:2</b>	<b>1:1</b>	<b>Total</b>	<b><math>\chi^2</math> (Significancia)</b>	<b>Relación de Momios (I.C. 95 %)</b>
<b>RPM (+)</b>	2	5	2	0.98 (0.31)	0.60 (0.086-4.16)
<b>RPM (-)</b>	6	9	20	0.002 (0.96)	1.66 (0.23-11.57)
<b>Total</b>	8	14	22	—	—

Análisis estadístico realizado mediante prueba Chi cuadrada.

Al analizar *Candida spp*, encontramos que no existe diferencia significativa entre las pacientes con cultivo positivo y la presencia de RPM asociado a cualquiera de los alelos. (Tabla 6)

**Tabla 6.-** Mujeres portadoras de alelos IL1B\*1 o IL1B\*2, en relación a la aparición de ruptura prematura de membranas, con cultivo positivo para *Candida spp*.

<i>Candida</i> spp.	1:2	1:1	Total	$\chi^2$ (Significancia)	Relación de Momios (I.C. 95 %)
RPM (+)	0	2	2	3.57 (0.058)	N.D
RPM(-)	8	12	20	0.12 (0.72)	1.6 (0.20-11)
<b>Total</b>	2	20	22	—	—

Análisis estadístico realizado con prueba de chi cuadrada

*C. abicans* es uno de los principales microorganismos causantes de cervicovaginitis en mujeres embarazadas, sin embargo con el presente estudio no se logró identificarlo como factor de riesgo para RPM asociado a cualquiera de los dos alelos, ya que se encontró únicamente en 2 pacientes dando una  $P > 0.05$ . (Tabla 7)

**Tabla 7.-** Mujeres portadoras de alelos IL1B\*1 o IL1B\*2, en relación a la aparición de ruptura prematura de membranas, con cultivo positivo para *C. albicans*.

<b>C. albicans</b>	<b>1:2</b>	<b>1:1</b>	<b>Total</b>	<b>Xi<sup>2</sup> (Significancia)</b>	<b>Relación de Momios (I.C. 95 %)</b>
<b>RPM(+)</b>	0	2	2	3.57 (0.058)	N.D
<b>RPM (-)</b>	8	12	20	0.12 (0.72)	1.6 (0.20-11)
<b>Total</b>	2	20	22	—	—

Análisis estadístico realizado mediante prueba Chi cuadrada. ND No determinado

#### IV. DISCUSION

Uno de los objetivos del presente estudio era determinar la presencia del gen polimórfico en la posición +3953 de IL-1 beta, y asociarlo con la presencia de RPM o PPT, de los resultados de importancia podemos mencionar que, el valor obtenido al respecto del alelo IL1B\*2 arrojó datos sobresalientes en cuanto a la asociación con la aparición de parto pretérmino, pues se documentó que al evaluar la presencia por arrastre del IL1B\*2, existe un riesgo para que se presente el fenómeno de 3.6 veces, con un límite superior en el intervalo de confianza (95 %) de 11.20; estadísticamente diferente con respecto a las mujeres que no presentaron la patología portadora del mismo alelo.

Por otro lado, si el análisis emplea a IL1B\*1 para asestar el riesgo de presentar la patología, se observa datos de relación de momios, así como de intervalos de confianza por debajo de la unidad, con altos valores de diferencia estadística; lo que se interpreta como el efecto protector que tiene dicho alelo en relación con la aparición del fenómeno, en reciprocidad a la predisposición que confiere la presencia de IL1B\*2.

Previo al presente estudio de asociación de IL1B\*2 y PP; Genc en el 2002 <sup>(13)</sup> reportó el único estudio al respecto, en el que encuentra un valor de riesgo para que se presente el fenómeno de 3.5 veces mayor al estar presente IL1B\*2 estadísticamente significativo (analizado por arrastre). Dicho estudio observó que tanto el grupo de mujeres Afroamericanas e Hispánicas presentaron esta

asociación, ya que el grupo de mujeres descendientes de Europeos, no mostró diferencia alguna. La identificación positiva en la asociación de PP y el alelo IL1B\*2 en mujeres Hispánicas, por parte del trabajo de Genc y el presente, señalan la importancia que parece desempeñar esta citocina en la aparición de PP.

Sin embargo, es posible relacionar los eventos que participan en la aparición de PP, pues de manera directa a los datos identificados en el presente estudio y en el de Genc; se han descrito estudios de casos y controles,<sup>(14-15)</sup> en el que se evalúan mujeres con productos de bajo peso al nacimiento (menor a 2500 g) debido a parto pretérmino, los cuales identifican asociación con periodontitis severa, en comparación con mujeres que presentaron parto a término; identificando un riesgo relativo de 7 para presentar PP, si la mujer embarazada presenta periodontitis severa.

La etiología actual de la periodontitis, no tiene todos los mecanismos esclarecidos en cuanto a la trayectoria clínica de la enfermedad, sin embargo, los mecanismos generales se conoce mejor, señalando que una deficiencia en la higiene bucal promueve la acumulación de bacterias anaerobias, las cuales forman un Biofilm con las piezas dentales. La presencia y desarrollo de estas bacterias, genera la producción continua de LPS, lo que activa a los monocitos/macrófagos presentes en el tejido gingival, induciéndolos a sintetizar diversas citocinas inflamatorias (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-6), PGEs y diversas MMPs.

En contraste con otros sitios, donde la inflamación desaparece una vez eliminado el agente patógeno, el Biofilm bacteriano permanece en asociación permanente con las piezas dentales, lo que mantiene estimuladas constantemente a las diferentes células efectoras de la respuesta inmunológica. Se ha demostrado que pacientes con periodontitis severa, expresan concentraciones elevadas en el ámbito circulatorio de las citocinas inflamatorias IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-6, en comparación con individuos sanos, y que a su vez la periodontitis severa está asociada de manera estadística significativa con una mayor frecuencia de ILB\*2.<sup>(16)</sup> Al relacionar los elementos antes descritos, se puede especular que la agresión constante por parte de los microorganismos, conduce a una mayor liberación en forma prolongada de IL-1 $\beta$  en aquellas mujeres portadoras de IL1B\*2, lo que en asociación de otros factores es capaz de dar inicio a los mecanismos de trabajo de parto en forma pretérmino.

Debido a todo lo encontrado por otros autores, en cuanto a la relación que existe entre la periodontitis y parto pretérmino, se intentó con esta investigación, identificar si existe relación pero con otro tipo de infección como es la infección cervicovaginal con la presencia de RPM y parto pretérmino, en relación con los diferentes alelos de IL1beta, ya que está descrito que la presencia de este tipo de infecciones también puede estar relacionado con RPM. Se buscó la presencia de *C albicans*, *Candida spp.*, *Gardnerella vaginalis*, *Micoplasma hominis*, *Estreptococo del grupo B*, *Clamidia*, sin embargo solo se lograron aislar *G vaginalis*, *C albicans* y *candida spp.*, en donde con ninguna se demostró

asociación con RPM o con la presencia de IL1B2 el cual cabe mencionar es de mayor respuesta. Probablemente estos resultados se deben al tamaño de la muestra, pues fue menor a la propuesta, es por esto que se tiene que seguir investigando para poder tener un mejor control de las pacientes embarazadas y poder determinar cuales son las pacientes con mayor riesgo para desarrollar este tipo de complicación.

Por otro lado, la presencia de los alelos puede tener implicaciones diferentes, dependiendo de si son portados por el producto y sus tejidos (membranas corioamnióticas), o por la madre. Esto se discute ya que en la aparición de PP se encuentra representado por dos entidades clínicas: ruptura prematura de membranas pretérmino y trabajo de parto pretérmino idiopático; lo que puede ser la diferente interpretación de una señal por células y tejidos maternos y fetales.

Esta aseveración se basa en la diferente capacidad de respuesta, observada por parte de las membranas amnióticas portadoras de IL1B\*2, que ha sido demostrado por Hernández et al <sup>(19)</sup> quienes de encontrarse en un embarazo determinado, presentarían una mayor sensibilidad y/o capacidad de síntesis de IL-1 $\beta$  ante estímulos bióticos y abióticos que promoviera su producción; mientras que membranas portadoras de alelos de baja respuesta, serían más refractarias para iniciar la síntesis de la citocina, ante el mismo estímulo. Esta descripción parece ser clínicamente referida con otras palabras, pues se describe que embarazos que presentan infección algunos presentan PP, y otros no. Se

señala que infecciones subclínicas pueden relacionarse hasta en un 25 % con la aparición de PP; lo que tiene una alta similitud con los datos reportados en cuanto al desarrollo de pericidontitis severa, y la relación que se ha encontrado de esta entidad con PP, en cuanto a la estimulación permanente que representa la agresión bacteriana gingival y una mayor liberación de IL-1 $\beta$  en mujeres portadoras de IL1B\*2.

Por otro lado, si el tejido fetal es quien muestra la presencia de los alelos de alta respuesta, la misma agresión biótica o abiótica despierta en células del corion y amnios, una mayor producción de IL-1 $\beta$  que podría iniciar los mecanismos de trabajo de parto, por parte de las membranas corioamnióticas, interpretándose el evento como la aparición de RPM que de presentarse antes de 37 semanas de gestación, puede condicionar la aparición de PP. Al igual que lo descrito previamente, la infección puede ser causa de hasta un 40 % de los casos de RPM, por lo que la explicación al respecto de diferencias en cuanto a la presencia de los alelos de IL1B\*2, puede ser por la diferente carga genética.

Es irrefutable que la aparición de PP necesita la sinergia de varios factores para que se presente el fenómeno; por lo que intentar explicarlo a partir de la presencia de un polimorfismo, es demasiado pretencioso. Sin embargo, el trabajo aquí reportado sienta las bases para incursionar en el área del pronóstico; rubro en desarrollo constante, ya que a la fecha no existe método alguno con valores de sensibilidad, especificidad, que pueda ser evaluado en

forma lo más temprana posible en cuanto a la aparición de PP; y que sea metodológicamente accesible en cuanto a su determinación; para identificar mujeres embarazadas con una mayor riesgo para presentar PP. De aquí que la identificación del alelo IL1B\*2, puede ser la base para iniciar la búsqueda del marcador estándar, que permita identificar mujeres con riesgo para presentar la patología, en asociación con variables ya descritas en relación a PP; como infección, edad, estado nutricional, características obstétricas; o con marcadores hasta ahora utilizados; como fibronectina fetal, citocinas inflamatorias determinadas en líquido amniótico o fluido cervico/vaginal. Por otro lado, el empleo de dicho alelo puede tener una aplicación inicial de tamiz, señalando mujeres que posiblemente responderán en forma más agresiva, en lo que corresponde a respuesta proinflamatoria al presentarse una agresión biótica; por lo que la presencia de infección en el embarazo podría ser determinante en la aparición de PP. Así, la identificación de este alelo puede desde antes del embarazo, identificar un grupo más susceptible de presentar la patología, y poner especial énfasis en la profilaxis y prevención en la aparición de infección.

Por otro lado, llevando a cabo la identificación de dicho alelo en el padre del neonato, es posible pronosticar el posible genotipo que tendrán los tejidos fetales, y así sumar el riesgo potencial al presentarse un cuadro infeccioso, de portar el producto alelos de alta respuesta a causa de los genes heredados por la parte paterna, elemento paterno hasta la fecha totalmente ignorado, y que es posible participe de manera relevante.

#### IV. CONCLUSIONES

1. Las pacientes que cuentan con IL1B\*2 tienen mayor riesgo de presentar parto pretérmino.
2. No existió relación entre la presencia de RPM e infección cervico vaginal.
3. No se encontró un incremento en la RPM ante la presencia de cualquiera de los alelos de la IL1B, aunado también a cualquier infección
4. Se deberá de continuar investigando la presencia de un factor genético en asociación a agentes patógenos para desarrollar RPM y parto pretérmino y de esta forma tener un mejor control de las pacientes con mayor riesgo.

#### IV. BIBLIOGRAFIA

1. Normas y procedimientos de Ginecología y Obstetricia. Instituto Nacional de Perinatología, 2002
2. Pollen W.J., Batty K., The etiology of premature ruptura membranas. Clin Obstet Gynecol. 1998; 41:810-6.
3. Marco A. Mejia et col. Ruptura prematura de membranas. Revista de Perinatología. 1996; 11 Enero Marzo.
4. Joseph M. Miller. Microbiology of premature rupture of the membranes. Clinical Obstetrics and gynecology. 1986; 29(4) December.
5. Rib Sherer. Maternal and neonatal outcome associated with prolonged premature rupture of membranes below 26 weeks gestation. Am J of Perinatol 1993;10:369-73.
6. Read J et al. The vaginal infection and prematurity. Am J Obstet Gynecol. 1993; 168:514-9.
7. Vadillo Ortega, Gonzalez Avila, Futh, Strauss. 92kd type IV collagenase ( matrix metalloproteainase-9) activity in human amniochorio increase with labor. Am J Pathol, 1995; 146(jan):148-56.
8. Jean Paul Mira. Association of TNF alfa promoter polymorphism with septic shock susceptibility and mortality. JAMA August 11 1999 Vol. 282 No. 6.
9. Williams Obstetrics, Ed. Panamericana 2000.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

10. Naeye RL et al. Factor that predispose to preterm rupture of the fetal membranes. *Obstet Gynecol.* 1982;60:63.
11. Sampson J. Etal. Fetal origin of amniotic fluid polymorphonuclear leukocytes. *Am J Obstet Gynecol.* 1997; 176:77-81.
12. Premature Rupture of membranes. *The American College of Obstetricians and Gynecologist. Practice Bulletin N 1*, 1998.
13. Genc,M., Gerber,S., Nesin, M., Witkin, S. Polymorphism in the interleukin 1 gene complex and spontaneous preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2002 187:157-163.
14. Offenbacherr, S., Katz, V., Fertik,G., Periodontal disease as a possible risk factor for preterm low birth weight. *J Periodontol* 1996 67:1103-13.
15. Offenbacherr, S., Beck, J., Periodontitis associated pregnancy complications. *Prenat Neonatal Med* 1998 3:82-5.
16. Kornman, K., Crane, A., Wang, H., di Giovine, F., Newman, M., Pirk, F., Wilson, T., Higginbottom, F., Duff, G., The interleukin 1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1997 24:72-7.
17. Martin et al. Premature rupture of membranes. *Clin Invest Gin Obstet.* 1995;22:10-8.
18. ACOG preterm rupture of membranes. *Technical Bulletin*, 1988;115.
19. Hernández-Guerrero C, Monzon-Bordonaba F, Jiménez-Zamudio L, Ahued-Ahued R, Arechavaleta-Velasco F, Strauss JF III, Vadillo-Ortega F. In vitro secretion of proinflammatory cytokines by human amniochorion carrying hyperresponsive gene polymorphisms of tumor necrosis factor and interleukin-1. *Mol Hum Reprod* 2003;9(10):1-5