

11217



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO  
HOSPITAL DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA  
"LUIS CASTELAZO AYALA"  
IMSS

EFFECTO DEL TRATAMIENTO CON CLINDAMICINA SOBRE LAS  
CONCENTRACIONES CERVICOVAGINALES DE LA METALOPROTEASA DE  
MATRIZ EXTRACELULAR 8 (MMP-8) EN PACIENTES CON VAGINOSIS  
BACTERIANA Y AMENAZA DE PARTO PRETÉRMINO.

**TESIS DE POSTGRADO**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
ESPECIALISTA EN GINECOLOGIA Y  
OBSTETRICIA  
P R E S E N T A  
DR. FRANCISCO J. ZIGA CORDERO

Asesor:

Dr. Fabián J. Arechavaleta Velasco  
Investigador Asociado C  
SNI NIVEL I

Coasesor

Dr. Gilberto Tena Alavéz  
Jefe de la división de Educación Médica e Investigación  
Hospital de Ginecología y Obstetricia "Luis Castelazo Ayala"



IMSS

MEXICO, D. F.

2004



DIVISION DE EDUCACION  
E INVESTIGACION MEDICA  
HGO. "LUIS CASTELAZO AYALA"  
IMSS



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.

**HOSPITAL DE GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA**  
**"LUIS CASTELAZO AYALA" IMSS**

**Efecto del tratamiento con clindamicina sobre las concentraciones cervicovaginales de la metaloproteasa de matriz extracelular 8 (MMP-8) en pacientes con vaginosis bacteriana y amenaza de parto pretérmino.**



---

Dr. Juan Carlos Izquierdo Puente  
Director Médico  
Hospital de Ginecología y Obstetricia "Luis Castelazo Ayala"



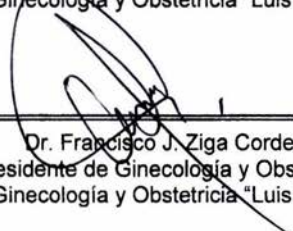
---

Dr. Gilberto Tena Alavéz  
Jefe de la división de Educación Médica e Investigación  
Hospital de Ginecología y Obstetricia "Luis Castelazo Ayala"



---

Dr. Fabián J. Arechavaleta Velasco  
Investigador Asociado C  
Investigador Nivel I SNI  
Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva  
Hospital de Ginecología y Obstetricia "Luis Castelazo Ayala"



---

Dr. Francisco J. Ziga Cordero  
Residente de Ginecología y Obstetricia  
Hospital de Ginecología y Obstetricia "Luis Castelazo Ayala"

## DEDICATORIA

A la Profa. Alma Luz Cordero J, por todo el amor, dedicación y apoyo que me ha brindado, por ser ejemplo de responsabilidad y constancia en todo momento, por tus valores y consejos otorgados. Te adoro mamá.

Al Prof. Francisco Ziga Espinoza, por ser ejemplo de superación y perseverancia y por haberme dado la herencia más importante para la vida, la educación. Te quiero papá.

A Carmen Damián, por estar siempre a mi lado en toda la especialidad, por ser mi amiga y compañera, por lo que hemos vivido y por lo que nos falta por andar. Te admiro y te respeto, pero sobre todo te amo.

A Lore, por su apoyo, compañía y confianza plena durante todo este tiempo. Lo mejor para ti y tu familia. Te quiero hermana.

A Kari, por su cariño y apoyo, por todos los buenos y malos momentos que hemos pasado juntos. Gracias hermana.

A toda mi familia pero especialmente a mi tío Armando, por darme su confianza para haber realizado la especialidad; a mi tío Marco por haberme orientado en el camino de la formación y a mi tío Carlos por sus sabios consejos hacia la superación personal.

A todas aquellas personas quienes me han ofrecido su apoyo incondicional y me han permitido formar parte de sus vidas.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. Fabián Arechavaleta, por su profesionalismo, paciencia, motivación y asesoría que logro llevar a cabo este trabajo. Por ser un gran maestro pero sobre todo un excelente amigo.

Al Dr. Gilberto Tena por haberme dado el apoyo y la confianza para poder desarrollar este trabajo.

Al Dr. José Antonio Ayala Méndez, Jefe del Departamento de Perinatología, por el apoyo brindado para desarrollar el presente trabajo.

A mis compañeros, especialmente a Balle, Cuica, López por su total apoyo y amistad sincera.

## **Resumen**

**Objetivo.** Determinar el efecto del tratamiento con clindamicina sobre las concentraciones cervicovaginales de la metaloproteasa de matriz extracelular 8 (MMP-8) en pacientes con vaginosis bacteriana y amenaza de parto pretérmino.

**Diseño del estudio.** Se realizó un estudio de tipo experimental, prospectivo, longitudinal y autocontrolado usando un inmunoensayo enzimático (ELISA) para detectar la MMP-8 en secreción cervicovaginal de 61 pacientes divididas en tres grupos: el grupo control fueron pacientes con vaginosis bacteriana negativa y fibronectina fetal (FNf) negativa (n=16), el primer grupo experimental (VN), formado por pacientes con vaginosis negativa y FNf positiva (n=20) y el segundo grupo experimental (VP) consistió de pacientes con vaginosis positiva y FNf positiva (n=27).

**Resultados.** La cuantificación de la MMP-8 antes del tratamiento con clindamicina mostró diferencia significativa entre el grupo de VP con respecto al control. En cuanto al grupo con VN no se encontraron diferencias con respecto al grupo control. Tampoco se encontraron diferencias entre los grupos VP y VN. En cuanto a las concentraciones de MMP-8 de los grupos experimentales antes y después del tratamiento no se observó diferencia alguna.

**Conclusiones.** El uso de clindamicina oral para el tratamiento de las pacientes en riesgo de parto pretérmino con vaginosis bacteriana mejora la sintomatología clínica, pero no modifica los niveles de MMP-8 en la secreción cervicovaginal.

## INDICE

ANTECEDENTES.....	1
Etiología del parto pretérmino.....	1
Vaginosis bacteriana.....	3
Infección intrauterina y parto pretérmino.....	4
Metaloproteasas de matriz extracelular.....	6
Tratamiento de la vaginosis bacteriana.....	7
OBJETIVO GENERAL.....	9
Objetivo Específico.....	9
HIPÓTESIS GENERAL.....	9
MATERIAL Y METODOS.....	10
Sujetos de estudio.....	10
Variables consideradas en el estudio.....	11
Protocolo de Estudio.....	11
Análisis estadístico.....	12
RESULTADOS.....	13
DISCUSION.....	15
BIBLIOGRAFIA.....	17



## ANTECEDENTES

El parto pretérmino se define como la presencia de contracciones uterinas espontáneas y regulares que se asocian a modificaciones cervicales a partir de la semana 28 y antes de completar la semana 37 de gestación, su definición connota la presencia de un síndrome clínico con un diagnóstico específico que es consecuencia de causas diversas pero que de manera general refleja la interrupción de los mecanismos responsables del mantenimiento del estado latente o quiescente del útero [1-3]. El parto pretérmino continúa siendo uno de los problemas más importantes en la obstetricia moderna, ya que se presenta entre el 7 al 10% de todos los nacimientos, corresponde al 70% de las muertes neonatales y el 75% de la morbilidad neonatal se ha asociado con esta complicación obstétrica. Entre las complicaciones más frecuentes de los neonatos nacidos prematuramente encontramos aumento en la incidencia de parálisis cerebral, daño neurológico, hemorragia intraventricular, enterocolitis necrotizante, sepsis, bajo peso al nacer y trastornos pulmonares [4, 5]. A pesar de que hoy en día se realizan investigaciones encaminadas a determinar su etiología, esta aun no es conocida del todo; sin embargo se ha logrado asociar diversos factores tales como el embarazo múltiple, antecedente de parto pretérmino, grupo étnico (p.e. raza negra), edad menor de 17 años o mayor de 34 años, deficientes cuidados prenatales, desnutrición, tabaquismo, estrés físico y psicosocial, cambios cervicales detectados antes del comienzo de trabajo de parto, infecciones genitourinarias e irritabilidad uterina con esta patología [6].

### ***Etiología del parto pretérmino***

La causa que induce el comienzo del parto pretérmino aun es desconocida, sin embargo se ha observado que diversas complicaciones del embarazo guardan relación apreciable con esta entidad patológica, así se describe que la ruptura prematura de membranas, el desprendimiento prematuro de la placenta, el excesivo crecimiento uterino (p.e. polihidramnios, embarazo múltiple), la incompetencia cervical, y ciertas complicaciones infecciosas, favorecen el parto pretérmino. Es importante mencionar, que las infecciones son reconocidas como una de las principales situaciones que favorecen su aparición, ya que más del 20% de los parto pretérminos se han asociado con procesos infecciosos y que en más del 40% de los casos se atribuye a la presencia de microorganismos en los tejidos maternos y en el mismo feto [7, 8], es decir, que existe la presencia de bacterias en el espacio coriodecidual, placenta, membranas fetales, cordón umbilical, líquido amniótico o bien en el feto (figura 1 ).



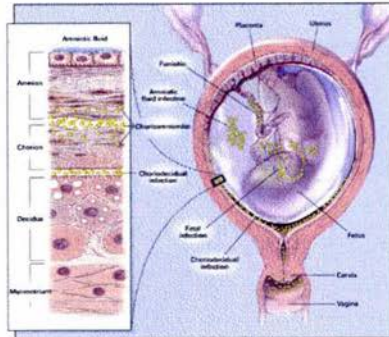


Figura 1 Potenciales sitios de infección bacteriana en el útero. (tomado de Goldenberg, RL. Et al. Intrauterine infection and preterm delivery N Engl J Med. 2000, 342: 1500-1507)

El papel de la infección en la patogenia del parto pretérmino fue reconocido por Bobitt y cols. a finales de los años 70's [9] y desde entonces existe evidencia que relacionan la presencia de microorganismos patógenos con esta complicación obstétrica. De manera interesante, en la mayoría de los reportes, las bacterias aisladas del líquido amniótico o de la placenta de pacientes que presentan parto pretérmino pertenecen al grupo de microorganismos de baja virulencia encontrados en la vagina especialmente en mujeres con vaginosis bacteriana, tales como *ureaplasma urealyticum*, *mycoplasma hominis*, *gardnerella vaginalis*, peptoestreptococos y bacterioides sp. [10]. Más aun, se ha establecido que el riesgo relativo de parto pretérmino en mujeres con vaginosis bacteriana es de 1.4 a 1.9 [11]. El mecanismo propuesto para explicar que las bacterias comensales de la vagina se encuentren en la cavidad amniótica, es que ciertos microorganismos liberan enzimas capaces de lisar la mucina presente en el moco cervical, permitiendo la invasión al tracto genital superior hasta el útero a través del espacio coriódectidial. En ocasiones, estas bacterias logran atravesar las membranas coriamnióticas para infectar el líquido amniótico y al feto (figura 2) [7].

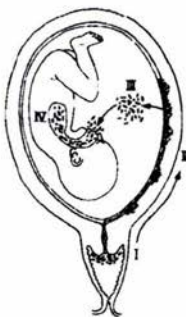


Figura 2. Principal ruta de ascenso bacteriano desde la vagina a la cavidad amniótica. (tomado de Romero, R. et al. Infection and preterm labor. Clin. Obstet. Gynecol. 1988 31: 553-584)

**Vaginosis bacteriana**

La vaginosis bacteriana se define como el cambio en la flora vaginal caracterizada por disminución en la población de lactobacilos y aumento masivo de ciertos microorganismos que incluyen principalmente a *G. Vaginalis*, bacterioides sp, mobiluncus sp, *U. urealyticum*, *M. Hominis*, peptoestreptococos sp, prevotella sp y enterobacterias. Esta alteración en la microbiología vaginal ocasiona cambios bioquímicos que incluyen elevación del pH, aumento en la concentración vaginal de diaminas, poliaminas y ácidos orgánicos, así como diferentes enzimas (p.e. mucinasas, sialidasas, proteasas de IgA, fosfolipasas A2 y C (figura 3).

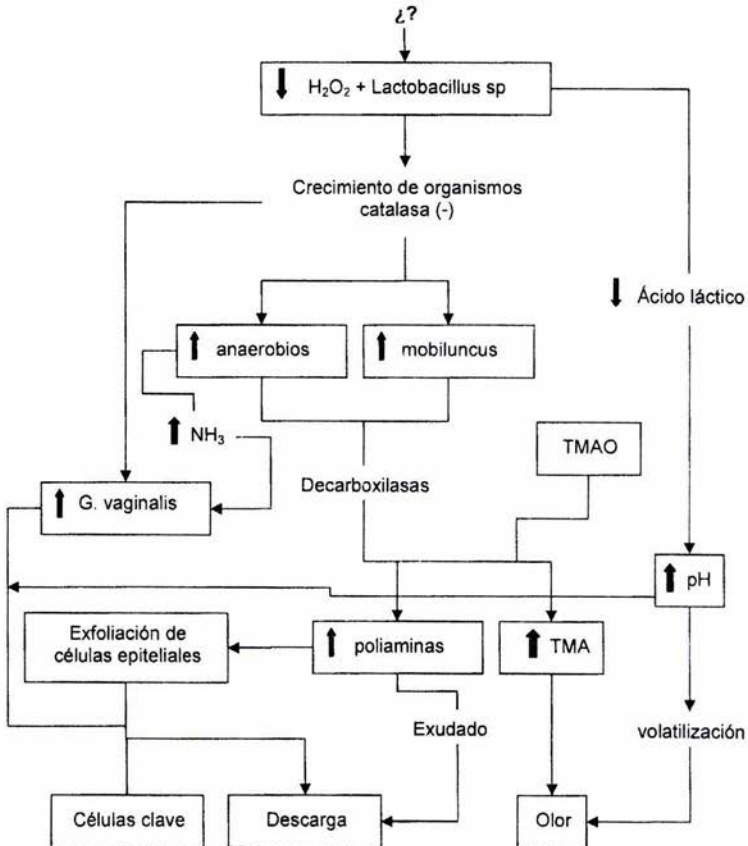


Figura 3. Fisiopatología de la vaginosis bacteriana (tomado de Sobel, JD. Bacterial vaginosis. Annu Rev Med 2000, 51:349-356)

El cambio de pH que se presenta durante la vaginosis bacteriana se debe a un metabolismo reducido de la glucosa a ácido láctico por la disminución de los lactobacilos, mientras que el olor "mal oliente" es consecuencia del incremento de aminas, trimetilamina, putrescina y cadaverina producidas por las bacterias que colonizan de manera anormal a la vagina. Así mismo el aumento de ácidos grasos de cadena corta como el succinato, acetato, propionato, isobutirato e isovalerato se asocia con mayor cantidad de trasudado vaginal y exfoliación de células epiteliales [12]. Estos cambios bioquímicos dan origen a las características utilizadas en el diagnóstico clínico de la vaginosis bacteriana, el cual se fundamenta en los criterios clínicos de Amsel [13] que incluyen:

- 1) presencia de descarga vaginal gris, homogénea, y adherente.
- 2) prueba de aminas positiva tras la aplicación de hidróxido de potasio al 10%
- 3) pH vaginal >4.5
- 4) presencia de células clave en el frotis vaginal

De estos criterios, la presencia de células clave es por sí solo el indicador más sensible y específico para el diagnóstico de vaginosis bacteriana [14], sin embargo la presencia de tres o más criterios es considerado como diagnóstico positivo para la vaginosis. Es importante mencionar que la realización de cultivos bacterianos no es necesaria a menos que la infección sea recurrente tras la prescripción antimicrobiana o cuando exista sospecha de infección por un microorganismo específico.

#### ***Infección intrauterina y parto pretérmino.***

Cabe mencionar, que la presencia de infección local o sistémica se encuentra en un porcentaje elevado de las mujeres que presentan parto pretérmino, por lo que se postula que de manera directa o indirecta, la existencia del proceso infeccioso puede inducirla [15]. Las teorías que vinculan a ambas patologías, incluyen tres posibilidades: 1) que las manifestaciones sean efecto directo de los productos bacterianos, 2) que sean consecuencia de la respuesta inmune o 3) que sean una mezcla de ambos. (figura 4).

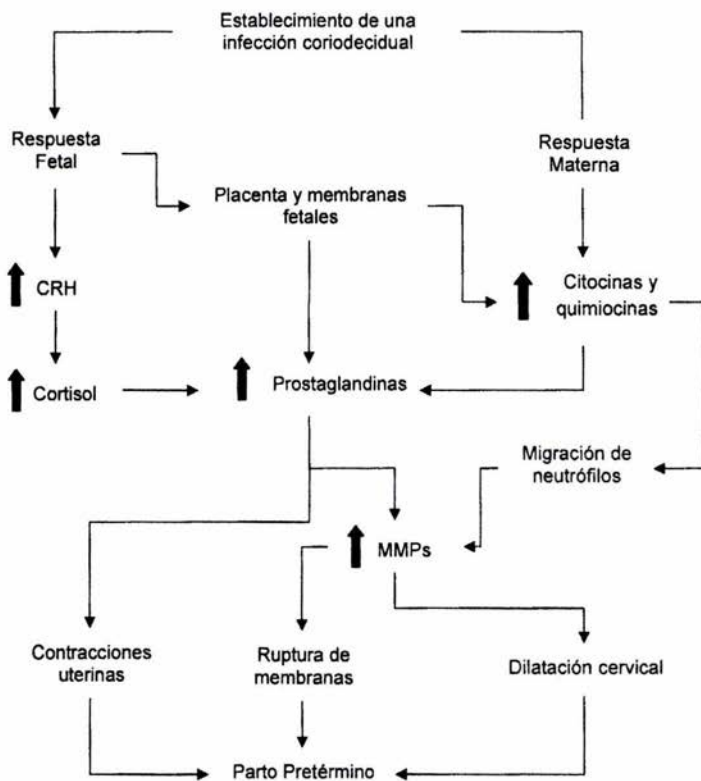


Figura 4. Diagrama de los diferentes mecanismos que se han propuesto para explicar la participación de la infección en el parto pretérmino (tomado de Goldenberg, RL. et al Intrauterine infection and preterm delivery N Engl J Med. 2000, 342:1500-1507).

Los microorganismos responsables de la vaginosis bacteriana son capaces de secretar proteasas que tiene actividad colagenolítica y fosfolipasa  $A_2$  que hidroliza los fosfolípidos de las membranas celulares, liberando araquidonato. El incremento de los niveles de araquidonato promueve la elevación en las concentraciones locales de prostaglandina  $E_2$  ( $PGE_2$ ) y prostaglandina  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ), que en conjunto con las proteasas bacterianas, juegan un papel importante en la inducción de las contracciones uterinas y de la degradación de los componentes moleculares de la matriz extracelular [16, 17].

La respuesta inflamatoria del hospedero constituye otro mecanismo importante en el desarrollo del parto pretérmino, ya que la migración de células polimorfonucleares o

monocitos al sitio de la infección, ocasiona la liberación de prostaglandinas y citocinas proinflamatorias como la interleucina (IL)-1, IL-6, IL-8 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), las cuales han sido relacionadas con el incremento en la producción de enzimas que degradan los componentes moleculares de la matriz extracelular en el cervix y las membranas corioamnióticas, denominadas como metaloproteasas de matriz extracelular [18-20].

### **Metaloproteasas de matriz extracelular**

Las metaloproteasas de matriz extracelular (MMPs) son una familia de más de 20 enzimas que se asocian con una variedad de condiciones normales y patológicas que incluyen la degradación y remodelación de la matriz extracelular [21], esta familia se divide en 4 clases principales de acuerdo a su sustrato específico: 1) colagenasas, 2) gelatinasas, 3) estromielinasas y 4) MMPs de membrana celular (tabla 1) A pesar de la diferencia en sus sustratos, estas moléculas comparten características estructurales que incluyen: 1) requerimiento absoluto de zinc como cofactor, 2) síntesis en forma de proenzimas, 3) secreción hacia el espacio extracelular como proenzimas inactivas y 4) activación del zimógeno o proenzima a la enzima [22].

MMP	Nombres	Peso (kDa)		Sustrato
		proenzima	enzima	
1	colagenasa-1, colagenasa intersticial	55	45	colágena tipo I, II, III, VII, VIII, X.
8	colagenasa-2, colagenasa de neutrófilos	75	58	colágena tipo I, II, III, V, VII, VIII, X, fibronectina, laminina, elastina
13	colagenasa-3	60	48	colágena tipo I, II, III, IV
2	colagenasa tipo IV de 72 kDa, gelatinasa A	72	62	colágena tipo I, II, III, IV, V, VII, X, XI, gelatina, laminina, fibronectina.
9	colagenasa tipo IV de 92 kDa, gelatinasa B	92	82	colágena tipo I, II, III, IV, V, VII, X, XI, gelatina, laminina, fibronectina.
3	estromielisina-1	57	45	colágena tipo II, III, IV, IX, X, XI, fibronectina, laminina
10	estromielisina-2	57	44	colágena tipo III, IV, V, fibronectina, elastina, laminina
11	estromielisina-3	51	44	fibronectina, laminina
14	MMP de membrana celular-1	66	56	colágena tipo I, II, III, IV

**Tabla 1.** Nomenclatura, peso molecular y sustratos de las metaloproteasas de matriz extracelular. (Modificado de Calbiochem Corp., San Diego, CA y Amersham Pharmacia Biotech, Inc., Piscataway, NJ).



En lo que se refiere a las colagenasas, la MMP-1 es producida por diversos tipos de células y su concentración se encuentra elevada en las membranas fetales antes del inicio del trabajo de parto, mientras que la MMP-8 se produce principalmente por neutrófilos, sin embargo también los condrocitos, fibroblastos y células coriónicas son capaces de sintetizar esta enzima. En lo que respecta a su expresión, se ha observado que la MMP-8 se encuentra aumentada en las membranas fetales durante el trabajo de parto y que la presencia de bacterias en la cavidad amniótica incrementa de manera significativa su concentración en el líquido amniótico [23-25].

La MMP-8 es una glucoproteína de 75 a 80 kDa, que es sintetizada como proenzima latente durante la etapa de mielocito en el desarrollo del neutrófilo y permanece almacenada en gránulos secundarios de los polimorfonucleares [26], para ser liberada bajo la estimulación quimiotáctica in vitro o durante procesos inflamatorios in vivo en respuesta a la presencia del TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-8, factor estimulante de colonias de macrófagos y granulocitos y metabolitos del ácido araquidónico. Una vez secretada, la enzima es activada y ésta es capaz de degradar la cadena  $\alpha$  de las colágenas tipo I, II y III, pero preferentemente la tipo I. Los cambios en la estructura de la colágena se pueden correlacionar clínicamente con cambios cervicales y/o ruptura de membranas corioamnióticas durante el parto pretérmino [27].

#### ***Tratamiento de la vaginosis bacteriana.***

El tratamiento de la vaginosis bacteriana consiste en la prescripción oral de metronidazol (90% eficacia) o de clindamicina (92% eficacia) [28]. Diversos estudios han reportado la utilidad de la clindamicina para la vaginosis bacteriana en la paciente embarazada y la tendencia actual es la prescripción del medicamento para reducir la incidencia del parto pretérmino y sus complicaciones en este grupo de pacientes [29]. La clindamicina es uno de los antimicrobianos más útiles en la vaginosis bacteriana, ya que es igualmente eficaz que el metronidazol, sólo que su espectro de acción es más amplio, incluyendo bacterias aerobias además de diversos anaerobios. La clindamicina es un derivado del aminoácido ácido trans L-4-N-propilglicínico unido a un derivado de una octosa que contiene azufre. Su mecanismo de acción consiste en suprimir la síntesis de proteínas, ya que se une de manera específica a la unidad 50 S de los ribosomas bacterianos [30]. El tratamiento recomendado para las mujeres embarazadas consiste en la administración oral de 300 mg de clindamicina dos veces al día durante 7 días; sin embargo existen tratamientos alternos con clindamicina tópica al 2% una vez al día por 7 días [11, 31, 32].



A pesar de que se sabe que la vaginosis bacteriana se asocia al parto pretérmino y que su tratamiento disminuye el riesgo de esta patología obstétrica, aun no existen estudios que evalúen el efecto de la clindamicina durante la vaginosis bacteriana en las concentraciones de la MMP-8 en pacientes con amenaza de parto pretérmino. Así mismo debemos considerar que el parto pretérmino continua siendo uno de los problemas más importantes de la obstetricia moderna, y un mejor conocimiento de los diferentes factores implicados podría permitir ajustar nuevos enfoques diagnósticos, y debería conducir a la racionalización de los diferentes tratamientos. Por esto, el propósito del presente estudio fue determinar si el tratamiento con clindamicina de la vaginosis bacteriana, modifica la concentración de MMP-8 en pacientes con amenaza del parto pretérmino y si este cambio afecta la evolución del padecimiento.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto del tratamiento antimicrobiano sobre la expresión de marcadores moleculares de la patogenia del parto pretérmino en pacientes con vaginosis bacteriana y amenaza de parto pretérmino.

### ***Objetivo Específico***

Determinar si el tratamiento con clindamicina disminuye la concentración de la colagenasa de neutrófilos (MMP-8) en la secreción vaginal proveniente de pacientes con vaginosis bacteriana y amenaza de parto pretérmino.

## **HIPÓTESIS GENERAL**

El tratamiento antimicrobiano reduce las concentraciones de MMP-8 en pacientes con amenaza de parto pretérmino y vaginosis bacteriana

## MATERIAL Y METODOS

Se realizó un estudio de tipo experimental, prospectivo, longitudinal y autocontrolado, en el cual se incluyeron 61 pacientes que ingresaron al Hospital de Ginecología y Obstetricia "Luis Castelazo Ayala" del IMSS, en el periodo comprendido de Enero a Diciembre del 2003. En todos los casos se cumplieron con los siguientes criterios:

### 1. Inclusión

- Pacientes con parto pretérmino (28-34 semanas) y vaginosis bacteriana.
- Derechohabientes.
- De cualquier edad.

### 2. Exclusión

- Ruptura de membranas.
- Apego inadecuado al tratamiento.
- Deseo de abandonar el estudio.

### 3. No inclusión

- Pacientes con embarazo menor de 28 semanas.
- Pacientes con embarazo de término.
- Embarazo gemelar.
- Polihidramnios.
- Muerte fetal.
- Malformaciones fetales.
- Patología asociada (diabetes mellitus gestacional, preeclampsia, infección de vías urinarias, etc).
- Ruptura de membranas.
- Tratamiento previo.
- No derechohabiente.

### ***Sujetos de estudio***

En total se incluyeron 61 pacientes en este estudio, que se dividieron en tres grupos. El primero considerado el grupo control (C) fueron pacientes que resultaron fibronectina fetal negativa y vaginosis negativa, el segundo grupo resulto de aquellas pacientes que presentaron FNf positiva y vaginosis negativa (VN), y finalmente el tercer grupo se conformo de aquellas pacientes con FNf positiva y vaginosis positiva (VP).

### ***Variables consideradas en el Estudio***

Fibronectina fetal (FNf): Esta variable fue considerada como nominal cualitativa y se determino por medio de un inmunoensayo de membrana en secreciones cervicovaginales utilizando el dipstick comercial (Adeza Biomedical).

Vaginosis: Se considero positivas aquellas pacientes que presentaron 3 de los 4 criterios clínicos de Amsel [13], que incluyen: 1) presencia de descarga vaginal gris, adherente y homogénea; 2) prueba de aminas positiva tras la aplicación de hidróxido de potasio al 10%; 3) pH vaginal >4.5 y 4) presencia de células clave en el frotis vaginal.

Concentración de MMP-8: Variable cuantitativa que fue determinada por medio de inmunoensayo enzimático (prueba de ELISA), bajo el principio de doble anticuerpo. En este caso se utilizo un estuche comercial (Amersham Pharmacia Biotech, Inc., Piscataway, NJ) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Otras variables que se consideraron en el estudio fueron:

1. Edad
2. Edad gestacional (EG) al ingreso
3. Longitud cervical al ingreso
4. EG al momento del parto
5. Gesta
6. Partos
7. Cesáreas
8. Abortos
9. Peso al nacimiento

### ***Protocolo de Estudio***

Una vez seleccionadas las pacientes se les procedió a la toma de fibronectina y se clasificaron de acuerdo a los grupos mencionados anteriormente. A todas las pacientes, así como a las del grupo control se les tomo una muestra de exudado cervicovaginal. Las pacientes que se incluyeron en los grupos experimentales fueron tratadas con 300 mg de clindamicina cada 12 horas por 7 días. Al final del tratamiento, a cada una de las pacientes se le realizo una segunda toma de muestra cervicovaginal. Todos los exudados fueron congelados a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento. Para determinar la expresión de la MMP-8 en las muestras, se utilizo un estuche comercial basado en la técnica de ELISA. El desarrollo de la técnica es el siguiente, de acuerdo al método descrito por Harlow y Lane [33]: Añadir

100  $\mu$ l/pozo de los estándares y muestras diluidas en PBS-BSA 3%, incubar por 2 horas a temperatura ambiente y lavar 4 veces con PBS-Tween. Agregar 100  $\mu$ l/pozo del anticuerpo secundario e incubar por 45 minutos a temperatura ambiente. Lavar 3 veces con PBS-Tween y añadir 250  $\mu$ l/pozo del sustrato, incubar a temperatura ambiente y en oscuridad hasta observar la reacción. Detener la reacción con hidróxido de sodio 3 M y leer la absorbancia a 405 nm de longitud de onda

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico de las variables experimentales se realizó usando un programa estadístico "Sigma Stat para Windows. Statistical Software. Versión 2.0" (Jandel Corporation). Para analizar la diferencia entre el grupo control y los experimentales se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis, mientras que para comparar las diferencias en cada uno de los grupos antes y después del tratamiento con clindamicina, se empleó la prueba de Wilcoxon. El nivel de significancia se estableció en  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

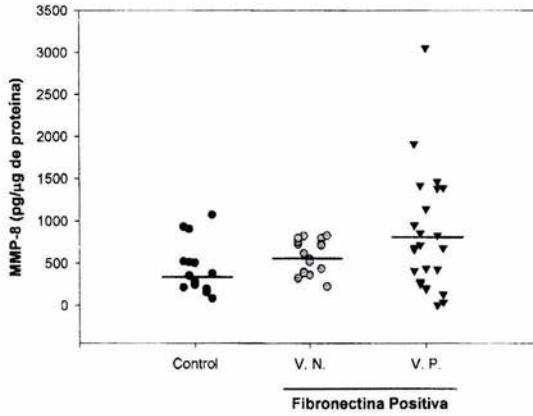
El análisis estadístico entre los tres grupos con respecto a las variables: edad, EG al ingreso, longitud cervical al ingreso, EG al momento del parto, gesta, partos, cesáreas, abortos y peso al nacimiento, no mostró diferencias significativas, aunque con respecto a la cesárea, se observó menor promedio en las pacientes del grupo control (Tabla 2).

	Controles (n=16) Promedio ± DS	Vaginosis Negativa (n=20) Promedio ± DS	Vaginosis Positiva (n=27) Promedio ± DS
Edad	26.08 ± 4.15	25.40 ± 4.95	26.81 ± 6.26
EG ingreso	31.21 ± 2.01	30.83 ± 1.83	30.61 ± 1.95
Longitud Cervical	N. D.	31.12 ± 7.22	32.64 ± 6.12
EG al momento del parto	N. D.	38.23 ± 1.44	37.66 ± 2.05
Gestas	2.14 ± 0.95	1.95 ± 0.76	2.03 ± 1.01
Partos	0.86 ± 0.77	0.50 ± 0.76	0.77 ± 0.93
Cesáreas	0.07 ± 0.27	0.30 ± 0.47	0.15 ± 0.36
Abortos	0.14 ± 0.36	0.15 ± 0.36	0.11 ± 0.32
Peso al nacimiento	N. D.	3075 ± 348	3019 ± 484
Partos pretérmino (%)	N. D.	5	15

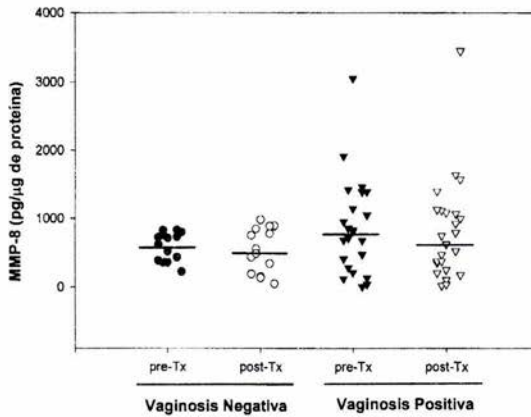
Tabla 2. Características demográficas de las pacientes incluidas en este estudio

La cuantificación de la MMP-8 antes del tratamiento con clindamicina mostró diferencia significativa entre el grupo VP con respecto al control. En cuanto al grupo VN no se encontraron diferencias con respecto al grupo el control. Tampoco se observaron diferencias entre los grupos VP y VN. En cuanto a las concentraciones de los grupos experimentales antes y después del tratamiento no se existió diferencia alguna (Figura 5 y 6).





**Figura 5.** Concentración de MMP-8 en los exudados vaginales de los tres grupos de estudio. La línea representa la mediana de la población. La prueba de Kruskal-Wallis seguida por la prueba de Dunnet's mostró significancia estadística entre el grupo VP y el control.



**Figura 6.** Concentración de MMP-8 en los exudados vaginales antes y después del tratamiento en los diferentes grupos de estudio con fibronectina fetal positiva. La línea representa la mediana de la población. La prueba de Wilcoxon no mostró significancia estadística entre los grupos.

## DISCUSION

La vaginosis bacteriana que se caracteriza por una reducción de los lactobacilos y un aumento de otros microorganismos vaginales tales como bacterias gram-negativas, anaerobias (p.e. *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides* sp, *Mobiluncus* sp y *Peptostreptococcus* sp) y micoplasmas genitales (p.e. *U. urealyticum* y *M. hominis*) se ha asociado a la inducción del parto pretérmino. El mecanismo que condiciona esta asociación se ha establecido paulatinamente y de manera general se puede decir que las citocinas y las metaloproteasas de matriz extracelular (MMPs) juegan un papel importante en la regulación de los eventos finales.

Las MMPs son un grupo de enzimas capaces de degradar componentes de la matriz extracelular y aunque a la fecha se conoce el patrón enzimático y el origen celular de estas enzimas durante el trabajo de parto, aun se desconoce que mecanismos las inducen. Con respecto a la MMP-8, se sabe que es secretada por polimorfonucleares fibroblastos y membranas corioamnióticas durante el trabajo de parto a término y pretérmino [34-36]. Su acción principal es degradar la colágena tipo I, II y III pero preferentemente la tipo I [37]. Fisiológicamente, esta enzima se encarga de la dilatación y borramiento del cervix, por lo que un incremento de ésta antes de la semana 37 de gestación puede ocasionar la inducción del parto pretérmino [38].

En el presente estudio, se incluyeron 61 pacientes divididos en tres grupos, los cuales mostraron ser similares en las variables como edad, EG al ingreso, longitud cervical al ingreso, EG al momento del parto, gesta, partos, cesáreas, abortos y peso al nacimiento, mostrando que la población es homogénea. Se utilizó la presencia de fibronectina fetal en la secreción vaginal como marcador principal para determinar aquellas pacientes con amenaza de parto pretérmino (APP).

En este trabajo se describe por primera vez que la MMP-8 se incrementa en las secreciones vaginales de las pacientes con fibronectina positiva y vaginosis bacteriana. Estos resultados correlacionan con los hallazgos de Angus y cols. que demuestran un incremento de la MMP-8 en el líquido amniótico de pacientes con infecciones intra-amnióticas [23].

Desde una perspectiva biológica, estos resultados podrían no parecer sorprendentes, ya que respuesta inmunológica materna a la vaginosis bacteriana implica el reclutamiento de polimorfonucleares, que son la fuente principal de la secreción de MMP-8 [34]. Sin embargo, resalta de manera interesante el no incremento de IL-8 en las secreciones vaginales de las

mismas pacientes [39], la cual esta estrechamente vinculado con la migración de los PMN al tejido uterino [27]. La ausencia de leucocitos polimorfonucleares plantea la hipótesis de que otra estirpe celular propia de la vagina o el cervix sean capaces de sintetizar y secretar esta enzima.

Con respecto al antibiótico utilizado para tratar a pacientes con vaginosis bacteriana durante el embarazo aun existe mucha controversia. Por ejemplo, morales y cols. [40] observaron que la administración oral de 250 mg de metronidazol por 7 días disminuía el riesgo de presentar PP, mientras que McGregor y cols. en 1994 [41], así como Joesoef y cols. en 1995 [42] evaluaron el tratamiento de la vaginosis bacteriana con clindamicina tópica al 2%, demostrando que no existe mejoría significativa en la resolución del embarazo y la morbilidad perinatal. Ambos autores concluyeron que la vaginosis bacteriana provocó la colonización del tracto genital superior y por lo tanto el tratamiento tópico no era suficiente, si no que se requería de un tratamiento sistémico. Basado en esto, y considerando que hasta el momento ninguno estudio realizado ha descrito el impacto que tiene la administración oral de clindamicina para el tratamiento de la vaginosis bacteriana sobre los cambios en la MMP-8, se decidió evaluar el efecto de dicho tratamiento en la concentración de esta enzima antes y después de su administración. Nuestros resultados muestran que no existe cambio en la concentración de la MMP-8 una vez completado el tratamiento con el antibiótico. Esta falta de respuesta de MMP-8 no se refleja en la mejoría de la vaginosis bacteriana, ya que las pacientes presentaron una disminución en la presencia de los criterios de Amsel [13].

Por otra parte, si consideramos que la incidencia de partos pretérmino de pacientes fibronectina positiva en este hospital es de 14.6 % [43], se observa en este trabajo que el uso de clindamicina en pacientes fibronectina positiva y vaginosis positiva no favorece la disminución de la incidencia de parto pretérmino.

En conclusión, se puede sugerir que el uso de clindamicina oral para el tratamiento de las pacientes en riesgo de parto pretérmino con vaginosis bacteriana mejora la sintomatología clínica, pero no así el riesgo de presentar parto pretérmino o los niveles de la MMP-8, por lo que se plantea que una vez establecidos estos cambios moleculares no pueden ser modificados. Un entendimiento más profundo de la relación del parto pretérmino y la infección uterina nos permitirá encontrar estrategias de diagnóstico y tratamientos que reduzcan el riesgo de ésta patología con la consecuente disminución en las tasas de morbi mortalidad perinatal.

## BIBLIOGRAFIA

1. Norwitz, E.R., J.N. Robinson, and J.R. Challis, *The control of labor*. N Engl J Med, 1999. **341**(9): p. 660-6.
2. Challis, J.R.G., et al., *Endocrine and paracrine regulation of birth at term and preterm*. Endocr Rev, 2000. **21**: p. 514-550.
3. Challis, J.R., et al., *Prostaglandins and mechanisms of preterm birth*. Reproduction, 2002. **124**(1): p. 1-17.
4. Mercer, B.M., et al., *The preterm prediction study: a clinical risk assessment system*. Am J Obstet Gynecol, 1996. **174**(6): p. 1885-93; discussion 1893-5.
5. Guyer, B., et al., *Annual summary of vital statistics--1996*. Pediatrics, 1997. **100**(6): p. 905-18.
6. Lams, J., *Preterm birth, in Obstetrics. Normal and problem pregnancies*, S. Gabbe, J. Niebyl, and J. Simpson, Editors. 1996, Churchill Livingstone: New York. p. 792-801.
7. Goldenberg, R.L., J.C. Hauth, and W.W. Andrews, *Intrauterine infection and preterm delivery*. N Engl J Med, 2000. **20**: p. 1500-1507.
8. Challis, J.R., et al., *Understanding preterm labor*. Ann N Y Acad Sci, 2001. **943**: p. 225-34.
9. Bobitt, J.R. and W.J. Ledger, *Unrecognized amnionitis and prematurity: a preliminary report*. J Reprod Med, 1977. **19**(1): p. 8-12.
10. Paige, D.M., et al., *Bacterial vaginosis and preterm birth: a comprehensive review of the literature*. J Nurse Midwifery, 1998. **43**(2): p. 83-9.
11. Lamont, R.F., *Antibiotics for the prevention of preterm birth*. N Engl J Med, 2000. **342**(8): p. 581-3.
12. McGregor, J.A. and J.I. French, *Bacterial vaginosis in pregnancy*. Obstet Gynecol Surv, 2000. **55**(5 Suppl 1): p. S1-19.
13. Amsel, R., et al., *Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations*. Am J Med, 1983. **74**(1): p. 14-22.
14. Thomason, J.L., et al., *Statistical evaluation of diagnostic criteria for bacterial vaginosis*. Am J Obstet Gynecol, 1990. **162**(1): p. 155-60.
15. Flynn, C.A., A.L. Helwig, and L.N. Meurer, *Bacterial vaginosis in pregnancy and the risk of prematurity: a meta-analysis*. J Fam Pract, 1999. **48**(11): p. 885-92.
16. Parry, S. and J.F. Strauss, 3rd, *Premature rupture of the fetal membranes*. N Engl J Med, 1998. **338**(10): p. 663-70.
17. Vadillo Ortega, F., et al., [*Phospholipase A2 and premature membrane rupture*]. Ginecol Obstet Mex, 1994. **62**: p. 143-5.
18. Katsura, M., et al., *Human recombinant interleukin-1 alpha increases biosynthesis of collagenase and hyaluronic acid in cultured human chorionic cells*. FEBS Lett, 1989. **244**(2): p. 315-8.
19. So, T., et al., *Tumor necrosis factor-alpha stimulates the biosynthesis of matrix metalloproteinases and plasminogen activator in cultured human chorionic cells*. Biol Reprod, 1992. **46**(5): p. 772-8.
20. Gomez, R., et al., *Pathogenesis of preterm labor and preterm premature rupture of membranes associated with intraamniotic infection*. Infect Dis Clin North Am, 1997. **11**(1): p. 135-76.
21. McCawley, L.J. and L.M. Matrisian, *Matrix metalloproteinases: they're not just for matrix anymore!* Curr Opin Cell Biol, 2001. **13**(5): p. 534-40.
22. Nagase, H. and J.F. Woessner, Jr., *Matrix Metalloproteinases*. J Biol Chem, 1999. **274**: p. 21491 - 21494.
23. Angus, S.R., et al., *Amniotic fluid matrix metalloproteinase-8 indicates intra-amniotic infection*. Am J Obstet Gynecol, 2001. **185**(5): p. 1232-8.
24. Maymon, E., et al., *Amniotic fluid matrix metalloproteinase-8 in preterm labor with intact membranes*. Am J Obstet Gynecol, 2001. **185**(5): p. 1149-55.
25. Maymon, E., et al., *Value of amniotic fluid neutrophil collagenase concentrations in preterm premature rupture of membranes*. Am J Obstet Gynecol, 2001. **185**(5): p. 1143-8.
26. Sigurdsson, F., et al., *Control of late neutrophil-specific gene expression: insights into regulation of myeloid differentiation*. Semin Hematol, 1997. **34**(4): p. 303-10.
27. Maymon, E., et al., *Human neutrophil collagenase (matrix metalloproteinase 8) in parturition, premature rupture of the membranes, and intrauterine infection*. Am J Obstet Gynecol, 2000. **183**(1): p. 94-9.



28. Hauth, J.C., et al., *Reduced incidence of preterm delivery with metronidazole and erythromycin in women with bacterial vaginosis*. N Engl J Med, 1995. **333**(26): p. 1732-6.
29. Thorp, J.M., Jr., et al., *Antibiotic therapy for the treatment of preterm labor: a review of the evidence*. Am J Obstet Gynecol, 2002. **186**(3): p. 587-92.
30. Hardman, J.G. and L.E. Limbird, eds. *Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics*. 10th ed. 2001, The McGraw-Hill companies, Inc.: New York.
31. Althabe, F., et al., *Effect of oral clindamycin on late miscarriage and preterm delivery*. Lancet, 2003. **361**(9375): p. 2161; author reply 2162.
32. Lamont, D.F., *Changes in vaginal flora after 2% clindamycin vaginal cream in women at high risk of preterm birth*. Bjog, 2003. **110**(8): p. 788-9.
33. Harlow, E. and D. Lane, *Antibodies. A laboratory manual*. 1988, New York: Cold Spring Harbor Laboratory. 578-583.
34. Hasty, K.A., et al., *Human neutrophil collagenase. A distinct gene product with homology to other matrix metalloproteinases*. J Biol Chem, 1990. **265**(20): p. 11421-11424.
35. Hanemaaijer, R., et al., *Matrix metalloproteinase-8 is expressed in rheumatoid synovial fibroblasts and endothelial cells. Regulation by tumor necrosis factor-alpha and doxycycline*. J Biol Chem, 1997. **272**(50): p. 31504-31509.
36. Arechavaleta-Velasco, F., et al., *Matrix metalloproteinase-8 is expressed in human chorion during labor*. Am J Obstet Gynecol, 2004. **190**(3): p. 843-50.
37. Hasty, K.A., et al., *The collagen substrate specificity of human neutrophil collagenase*. J Biol Chem, 1987. **262**(21): p. 10048-52.
38. Sennstrom, M.B., et al., *Matrix metalloproteinase-8 correlates with the cervical ripening process in humans*. Acta Obstet Gynecol Scand, 2003. **82**(10): p. 904-11.
39. Cuica Flores, A., *Efecto de la antibioticoterapia en la expresión de marcadores moleculares de parto pretérmino en la secreción vaginal de pacientes con vaginosis bacteriana y amenaza de parto pretérmino*, in *Facultad de Medicina, División de Estudios de Postgrado, Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 4 "Luis Castelazo Ayala", IMSS*. 2004, U.N.A.M.: México, D. F. p. 19.
40. Morales, W.J., S. Schorr, and J. Albritton, *Effect of metronidazole in patients with preterm birth in preceding pregnancy and bacterial vaginosis: a placebo-controlled, double-blind study*. Am J Obstet Gynecol, 1994. **171**(2): p. 345-7; discussion 348-9.
41. McGregor, J.A., et al., *Bacterial vaginosis is associated with prematurity and vaginal fluid mucinase and sialidase: results of a controlled trial of topical clindamycin cream*. Am J Obstet Gynecol, 1994. **170**(4): p. 1048-59; discussion 1059-60.
42. Joesoef, M.R., et al., *Intravaginal clindamycin treatment for bacterial vaginosis: effects on preterm delivery and low birth weight*. Am J Obstet Gynecol, 1995. **173**(5): p. 1527-31.
43. Aguilar Gutierrez, F., *Impacto económico del manejo de parto pretérmino en base al resultado de fibronectina fetal (FNf)*, in *Facultad de Medicina, División de Estudios de Postgrado, Hospital de Ginecología y Obstetricia No. 4 "Luis Castelazo Ayala", IMSS*. 2003, U.N.A.M.: México, D. F. p. 29.