

11217



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

Polimorfismo del gen IL-1ra y su relación con RPM.

SUBDIVISION DE ESPECIALIZACION  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA  
U.N.A.M.

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN:  
GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA

P R E S E N T A

Dr. Rubén Iván Sauer Calvo

Profesor Titular

Dr. Roberto Ahued Ahued

Tutores

Dr. César Angel Hernández Guerrero

Dr. José Manuel Madrazo Cabo



INPer

MEXICO, D. F.

2004



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.

---

**DR. JOSE ROBERTO AHUED AHUED**  
Profesor Titular

**INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA**



**DIRECCION DE ENSEÑANZA**

---

**DR. RUBEN A. BOLAÑOS ANCONA**  
Director de Enseñanza

---

## *Dedicatoria*

*A mis padres*

*Por el amor, respeto y admiración que tengo y por que han sido una guía  
para mí, gracias por apoyarme siempre.*

*A mis hermanas, Nuria y Tatiana*

*Por estar unidos y compartir los mejores momentos.*

*A mi abuela Rosa María*

*Por ser un ejemplo de lucha por la vida.*

*A Margarita*

*Por su apoyo incondicional y por su forma de superar las adversidades.*

---

## INDICE

<b>I. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>II. Objetivos</b>	<b>15</b>
<b>III. Hipótesis</b>	<b>16</b>
<b>IV. Justificación</b>	<b>16</b>
<b>V. Material y métodos</b>	<b>17</b>
<b>VI. Resultados</b>	<b>21</b>
<b>VII. Discusión</b>	<b>27</b>
<b>VIII. Conclusiones</b>	<b>29</b>
<b>IX. Bibliografía</b>	<b>30</b>

---

## I. Introducción

Se designa a la 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/o por lo menos dos horas antes de la iniciación del trabajo de parto.<sup>1</sup>

La RPM es el resultado de una amplia variedad de mecanismos patológicos que actúan en forma individual o conjunta. La edad gestacional al momento de la ruptura tiene implicaciones notables en cuanto a la etiología y consecuencias, cuando ésta sucede antes del término, se transforma en una de las principales causas de complicaciones relacionadas con la prematurez. Como el síndrome de dificultad respiratoria, que es la complicación más frecuente, la hemorragia intraventricular, enterocolitis necrotizante y sepsis, ésta última con posibilidades de presentarse también en la madre.<sup>2</sup>

A pesar de la investigación intensiva en ésta área, es una complicación que con frecuencia se presenta existiendo controversias para el clínico en cuanto al mejor diagnóstico, manejo óptimo, momento y forma de nacimiento. El tratamiento conservador, incrementa las posibilidades de complicaciones, principalmente de tipo infeccioso, pero brinda la posibilidad de una mayor madurez pulmonar al feto; el manejo intervencionista, con interrupción del embarazo, disminuye el riesgo de complicaciones infecciosas, pero incrementa la incidencia de inmadurez pulmonar.

Las membranas corioamnióticas constituyen un tejido que se ha reconocido como el órgano blanco de la patología del embarazo denominada ruptura prematura de membranas. En ésta patología de manera característica las membranas se rompen en ausencia de otros eventos del trabajo de parto y resultan, en por lo menos una tercera parte de los casos, en nacimientos pretérmino.

---

El parto pretérmino se presenta aproximadamente en 11% de todos los embarazos en Estados Unidos, siendo una causa mayor de morbilidad y mortalidad neonatal. Es el responsable del 75 – 80% de la mortalidad perinatal. En los nacimientos pretérmino la RPM está presente en el 25 – 33 % de los casos y el embarazo se resolverá en el 90% de los casos en una semana.

En los embarazos de término la RPM se presenta en el 8% y el embarazo se resolverá en el 95% de los casos en las próximas 28 horas.

La incidencia de RPM depende de la edad gestacional en que se presente, aunque también difiere en las publicaciones existentes.<sup>2</sup>

En el Instituto Nacional de Perinatología la incidencia de RPM es de 9.8% entre todos los nacimientos. Este fenómeno ocupó la primera causa materna de muerte neonatal en 17% y secundaria en 21%. Se estima del 11 al 16% de los embarazos menores de 37 semanas cursan con esta eventualidad.<sup>1</sup>

Las complicaciones tanto maternas como fetales, están inversamente relacionadas con la edad gestacional en la que se presente la RPM. En la madre los procesos infecciosos como la coriamnioítis y deciduoendometritis, son las que guardan mayor importancia. En el neonato, las más frecuentes, son el síndrome de dificultad respiratoria, la enfermedad de membrana hialina y la sepsis.

La relevancia de la RPM como problema de salud, dada la frecuencia y complicaciones asociadas, ha ameritado gran número de estudios encaminados a identificar su fisiopatología y eventualmente intervenir en la historia natural de la enfermedad.

---

El avance de esta área ha permitido generar sistemas para establecer el riesgo de desarrollar RPM, basados en el nivel socioeconómico, historia reproductiva, hábitos higiénicos y complicaciones del embarazo; y que sin embargo no han sido de utilidad para disminuir la incidencia de la enfermedad. El hecho de que la prevalencia alta de RPM se ha relacionado con condiciones ambientales adversas, permite suponer que el estrato socioeconómico y cultural más desprotegido contiene determinantes que podrían sumarse o potenciarse para inducir la aparición de esta complicación en el embarazo.

De este modo, el estudio de los determinantes de la RPM ha señalado a la infección cervicovaginal e intrauterina como una explicación causal de esta complicación del embarazo. Y es precisamente en las poblaciones más pobres en las que las tasas de infecciones son mayores y sus complicaciones peores.<sup>3</sup>

La aceptación amplia de la hipótesis del origen infeccioso de la RPM obedece a que la información acumulada alrededor del tema tiene un sentido biológico, pues parece claro, que el arribo de microorganismos a las membranas corioamnióticas podría debilitar su estructura por efecto directo a través del proceso inflamatorio consecuente. Por otro lado, diferentes autores han encontrado asociación en diferentes estudios clínicos, entre la presencia de infección cervicovaginal y/o intrauterina y el desarrollo de RPM, mostrando cierta consistencia en esta asociación, puesto que la infección se puede documentar solamente entre el 30-40% de todos los casos de RPM y solo el 25-30% de mujeres en que se documenta la infección intraamniótica, desarrollan RPM posterior. 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 RPM se ha encontrado que hasta en 40% tienen el diagnóstico de coriamnioítis y 70% cumplen con criterios histopatológicos del proceso.<sup>4-5</sup>

---

Se han realizado estudios in vitro de los efectos de las proteasas, colagenasas y elastasas bacterianas sobre las membranas corioamnióticas. Algunas bacterias pueden producir enzimas que degradan directamente la colágena y su matriz. Agentes como la *Pseudomona aureoginosa*, *Staphilococcus aureus*, *Streptococcus agalactiade*, *Bacteriodes melaninogenicus* y *Enterobacteriaceae*, producen colagenasa.<sup>6</sup>

Estudios epidemiológicos, clínicos, histológicos, microbiológicos y de biología molecular sugieren que la infección local e inflamación pueden guardar un papel primario o secundario en la patogénesis de la RPM. También se ha sugerido la asociación entre infección útero-placentaria, RPM y parto pretérmino.

Se ha observado un incremento de RPM en las pacientes de bajo nivel socioeconómico, esto probablemente debido a una asociación con el incremento de la infección del tracto genital y enfermedades de transmisión sexual. Se ha observado incremento en los niveles de IgA, IgM y la presencia de datos clínicos entre 1 a 12 horas después del inicio de la RPM y en las 72 horas previas a la RPM, lo cual sugiere que la infección se presenta antes de la RPM.<sup>7</sup>

Vadillo y cols, encontraron un incremento en los niveles de metaloproteínasa-9 cerca del sitio de la ruptura de membranas, en pacientes con trabajo de parto, a diferencia de pacientes a las cuales se les realizó cesárea sin trabajo de parto. Con la presencia de bacterias, se forman productos intermediarios, como radicales libres, que provocan destrucción local de tejidos, necrosis y rotura de enlaces peptídicos en la colágena. El ácido resultante desestabiliza las membranas lisosomales endógenas y potencializa la eficacia de las bacterias para desactivar las inmunoglobulinas A y G en el moco cervical. El amnios puede reaccionar a las bacterias con la producción de citocinas, entre éstas la IL-6 e IL-8, las cuales son introducidas al medio por leucocitos polimorfonucleares. Hasta hace poco se suponía un origen materno de la reacción leucocítica; sin embargo ya se ha comprobado el origen fetal de éstas células.<sup>8</sup>

---

Los leucocitos fetales producen IL-1B, otra citosina, en concentraciones que superan las de las células adultas, ésta hace que las células amnióticas produzcan prostaglandina E2, la cual es un potente oxitócico, con el incremento de la actividad uterina consiguiente es más probable que se produzca la RPM.<sup>9</sup>

También se han considerado a las fosfolipasas A2 y C, que se encuentran en amnios y corion, por medio de las bacterias, se degradan los fosfolípidos que forman parte de las membranas; junto con el calcio, los productos terminales de las fosfolípidos, las prostaglandinas F2 y E2, originan contracciones uterinas y predisponen la RPM.<sup>10</sup>

Se identificó un tipo específico de colágena tipo V en líquido amniótico, encargada del anclaje de la membrana basal al amnios y sus podocitos a la matriz extracelular avascular. Se ha propuesto que una señal del feto, muy probablemente producida en reacción a las bacterias en estado patológico, o como parte del proceso de maduración en embarazos normales, estimula la producción fetal de colágena tipo V. Posteriormente con la desorganización de la membrana basal, se produce la RPM.<sup>11</sup>

Para explicar estas discrepancias, recientemente se han sugerido la posibilidad de que el modo de respuesta individual a la infección podría condicionar el desarrollo de complicaciones asociadas al evento infeccioso, como el caso de RPM en asociación a las infecciones cervicovaginales. Este modo de respuesta individual ha sido correlacionado con algunos marcadores genéticos y así, ha sido posible ligar la presencia de ciertos polimorfismos de genes de mediadores inflamatorios, como el Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF-alfa), la Interleucina 1-beta (IL- 1b) y el Antagonista del Receptor de IL-1 (IL1-RA), con cuadros clínicos infecciosos en los de que modo característico se documentará la existencia de respuesta inflamatoria exagerada, en comparación con la que es posible documentar en individuos sin el polimorfismo específico. Esta respuesta inflamatoria se puede catalogar como exagerada, por la concentración aumentada

---

de diferentes integrantes de la red de mediadores y por los efectos biológicos derivados de su presencia, que correlacionan con morbilidad aumentada.<sup>12</sup>

La nicotina, cotinina, monóxido de carbono, hidrógeno de cianina, óxido nítrico y otros componentes del tabaco, son distribuidos en el tejido y fluido en todo el cuerpo. El tabaquismo puede incrementar el riesgo para RPM y parto pretérmino, esto por medio de un incremento en el mecanismo de proinflamación; los componentes del tabaco, inhiben la relación de actividad plaquetaria (PAF), factor-acetil hidrolasa por macrófagos en la decidua. El PAF es un potente proinflamatorio y mediador del inicio de trabajo de parto, así como estimulador de la producción de prostaglandinas E2 del corioamnios, produciendo contracción uterina. El tabaco puede producir disminución de aminoácidos en el trofoblasto, lo que interfiere en la síntesis de proteínas y en la integridad del amnios y corion. Además, el tabaquismo se ha relacionado con vasculopatía, isquemia, deciduitis y necrosis. Se ha encontrado que los niveles de ácido ascórbico están reducidos en las pacientes con tabaquismo, algo que afecta en la biosíntesis de células epiteliales de colágenas del amnios.<sup>13</sup>

El déficit nutricional en relación a la RPM guarda importancia, ya que se ha encontrado que para su prevención, el soporte nutricional adicional puede ser una alternativa. Por lo que se ha considerado que la deficiencia nutricional preconcepcional, es un factor de riesgo para RPM y RPM pretérmino.

La deficiencia de Zinc, tiene importancia en la RPM y la RPM pretérmino: ya que interfiere en la estabilización de las biomembranas, y es esencial en la estructura de muchas enzimas incluyendo, metaloproteasas, DNA y RNA polímeras; además tiene función antibacteriana en el líquido amniótico. Se ha demostrado que una disminución significativa en los niveles séricos de zinc en mujeres con RPM en mujeres con RPM pretérmino en comparación con embarazadas a término sin RPM.<sup>14</sup>

---

La deficiencia de vitamina C se ha postulado en la patogénesis de la RPM pretérmino. La función del ácido ascórbico interfiere en la biosíntesis de colágena. Los niveles bajos de ácido ascórbico pueden disminuir la fuerza y elasticidad de las membranas corioamnióticas y puede contribuir a la RPM pretérmino; además, el ácido ascórbico es de gran importancia para la función inmunológica normal y se encuentra acumulado tanto en leucocitos como en células del epitelio cervical en mujeres sanas.<sup>15</sup>

En pacientes con RPM o bien RPM pretérmino han presentado niveles bajos de ácido ascórbico en los leucocitos, comparados con casos controles, respecto de las pacientes cuya dieta se basa principalmente en frutas y vegetales, no se ha encontrado correlación con los niveles de ácido ascórbico en leucocitos.<sup>16</sup>

Por otro lado, diferentes estudios han caracterizado la microbiología asociada a los casos complicados con RPM y aunque existen algunas diferencias entre los distintos países, en general coinciden en señalar que los gérmenes que se aíslan de modo más común son el *Streptococo* del grupo B, *Ureaplasma Urealyticum*, *Mycoplasma* y aquellos asociados a la vaginosis bacteriana. Pero una vez más, es importante señalar que la presencia de cualquiera de estos microorganismos no es sinónimo de desarrollo de RPM y una posibilidad que hasta ahora no ha sido explorada de modo sistemático en la literatura es la caracterización de la virulencia de los diferentes serovares que se conocen para cada uno de ellos.<sup>17</sup>

El TNF-alfa es una proteína de 17.3 kiloDaltones (kD) que desempeña un papel central en la respuesta inmunológica, debido a la multitud de acciones que media en contra de diversos agentes patógenos. Clásicamente es sintetizada por monocitos-macrófagos, pero puede ser producido por otros tipos celulares (linfocitos T y B).<sup>18</sup>

Diversos estudios, ha reportado que el de TNF-alfa presenta un polimorfismo identificado por un substitución de base (Adenina por Guanina), en la región promotora/potenciadora (posición 308 del gen). Denominándose en forma general TNFalfa-1, al gen original y TNFalfa-2 al gen que presentaba la substitución de base. Se comparó la capacidad de síntesis de los alelos de TNF-alfa mediante el uso de líneas celulares transfectadas (células B, Raji), con segmentos del gen que incluían la región promotora/potenciador de los alelos 1 y 2 de TNF-alfa, cuantificando la síntesis mediante genes reporteros (ensayo de Cloranfenicol acetiltransferasa). Los resultados obtenidos, permitieron identificar una mayor capacidad de síntesis a nivel transcripcional de la proteína, al encontrarse presente el alelo 2 en comparación con el valor de transcripción del alelo 1 de TNF-alfa. Por otro lado, al utilizar células mononucleares en cultivo estimuladas con LPS, ha sido posible observar una mayor síntesis de TNF-alfa, en aquellas células que presentan el alelo 2 de la citosina de manera homocigota.<sup>19</sup>

De las citocinas en la cascada inflamatoria, el receptor antagonista de interleucina 1 (IL-1ra) es la más poderosa proteína anti-inflamatoria. El gen que codifica para IL-1ra tiene una expresión polimórfica, con un grado variable de actividad. Esta actividad puede asociarse con mayor susceptibilidad a resultados adversos, especialmente infecciones. Los estudios de PCR muestran que la distribución del alelo de IL-1ra en mujeres embarazadas es similar a la población general. El gen 1.1 se encontró en 68% de las pacientes con infección. Los estudios moleculares del IL-1ra muestran dominios que son valorados como sitios de mutagénesis. La interacción entre IL1-R y el antagonista es principalmente de carácter polar.<sup>20</sup>

Aunque gran parte del interés por las citocinas se ha concentrado en la participación potencial de las moléculas en la producción de prostaglandinas, la contractilidad miometrial, la maduración cervical y la rotura de membranas, es probable que las citocinas que generan regulación descendente del proceso inflamatorio (es decir, antagonistas del receptor de IL-1 (IL-1ra), factor del

---

crecimiento transformador beta (TGF-beta) también pueden tener importancia en el control del parto prematuro.

El antagonista del receptor de interleucina-1, esta citosina, miembro de la familia del gen que codifica la IL-1. El IL-1ra se produce en macrófagos y monocitos que bloquean la unión de ambas especies de IL-1 a los receptores de tipo I y tipo II, sin producir actividad agonista en la mayor parte de los tejidos. La administración exógena de IL-1ra suprime casi todas las propiedades de la IL-1, tanto in vitro como in vivo, incluso la producción de prostaglandinas inducida por IL-1 en varios tipos de células, el amnios humano y el corion.

Dado que esta propiedad puede tener repercusiones terapéuticas en cuanto al bloqueo de la producción de prostaglandinas (inducida por IL-1) por los tejidos intrauterinos, relacionada con infección intrauterina, es importante su estudio, tanto de las variedades de genes como el polimorfismo para IL-1ra. El IL-1ra es un constituyente fisiológico del líquido amniótico humano y de la sangre materna y del feto. En realidad, las cifras de IL-1ra en líquido amniótico normal se encuentran entre las más altas observadas en cualquier líquido biológico examinado hasta hoy. En mujeres en trabajo de parto prematuro y membranas intactas, las cifras de IL-1ra en el líquido amniótico y el plasma del cordón umbilical son mucho más altas en presencia de infección uterina. Además existe un efecto importante del género fetal en las concentraciones de IL-1ra en el líquido amniótico y la orina neonatal. Las mujeres que portan fetos del sexo femenino tiene mayores cifras de IL-1ra en el líquido amniótico y la orina neonatal. Esto puede explicar en parte la incidencia más bajo de nacimiento prematuro y sepsis neonatal vinculados con fetos del sexo femenino.<sup>21-22</sup>

También se ha estudiado el efecto de la IL-1ra en la producción de prostaglandina E2 inducida por IL-1, mediante cultivos primarios de amnios y corion en humanos, encontrando disminución de la producción de IL-1-prostaglandina de modo dependiente de la dosis.<sup>21</sup>

---

La IL-1ra fue descrita originalmente como una molécula secretada por monocitos y macrófagos (sIL-1ra). La función primaria de la sIL-1ra es inhibir de manera competitiva la unión a los receptores celulares de la IL1. Tres isoformas intracelulares de esta molécula se han descrito actualmente. El papel de cada una de ellas no está claro actualmente.<sup>23</sup>

La IL-1ra está estructuralmente relacionada con la IL-1alfa y la IL-1beta y compete con éstas moléculas para ocupar el receptor en la superficie celular de la IL-1. Debido a que no manda una señal de transducción, actúa como inhibidor competitivo. Y puede por lo tanto desempeñar un papel crucial de enfermedades relacionadas con la IL-1, actuando como un regulador endógeno de la inflamación.<sup>24</sup>

La secuencia de los genes muestra cuatro copias de una secuencia de 86 pares de bases en el intron 2 del gen IL-1ra. En la misma región se reporta un polimorfismo en los alelos, con segregación Mendeliana. De esta manera, los individuos con diferente número de copias de la secuencia de 86 pares de bases en el intron 2 del gen IL-1ra pueden corresponder a diferentes sitios de unión de proteínas, el potencial efecto funcional del polimorfismo.<sup>25</sup>

Los estudios de los alelos del gen IL-1ra en las enfermedades crónicas inflamatorias y enfermedades degenerativas muestran diferencia en la frecuencia del alelo A2 entre la población normal y ciertos desórdenes de enfermedades inflamatorias, lo cual pueden también estar presentes en pacientes con RPM.

---

## **II. Objetivos**

### **2.1 Objetivo General.**

Determinar el polimorfismo del gen IL-1ra en un estudio longitudinal de mujeres embarazadas de más de 20 semanas y su relación con el desenlace del embarazo.

### **2.2 Objetivos específicos.**

- 1.- Identificar mediante técnica de PCR la presencia de los alelos 1 a 5 y señalar su ubicación de los alelos que vamos a amplificar.
- 2.- Correlacionar la presencia del alelo A2 con la aparición o ausencia de RPM e infección cervicovaginal.

---

### **III. Hipótesis**

La expresión del gen IL-1ra polimórfico es diferente en las muestras provenientes de pacientes con ruptura prematura de membranas, que el grupo que no lo presente. Ya que en las mujeres con RPM tendrán el alelo A2 con mayor frecuencia.

### **IV. Justificación**

Considerando la incidencia de RPM que se reporta en la bibliografía mundial de hasta un 32% y la implicación económica que representa si tomamos en cuenta que el 40% de los partos pretérminos son determinados por esta entidad, el presente estudio tiene por objeto el presentar algunas bases para comprender mejor la etiopatogenia de esta entidad, con la intención de proponer nuevas alternativas de diagnóstico, pronóstico y manejo para en un futuro brindar alternativas para disminuir riesgos.

## V. Material y métodos

### 5.1 Diseño de estudio:

Tipo de investigación: observacional.

Tipo de diseño: cohorte.

Características del estudio.

En relación al método de observación: longitudinal.

En relación al tipo de análisis: analítico.

En relación a la temporalidad: prospectivo.

### 5.2 Población.

Grupo de estudio.

Mujeres que acudan a su valoración de Primera vez a la Consulta Externa del Instituto Nacional de Perinatología con un embarazo entre las semanas 18 a 22, que acepten participar en el estudio por informe escrito confirmado. Este grupo de estudio se observará 2 veces más en las semanas 28 y 36 realizándose las mismas observaciones analíticas. En todas las mujeres incluidas en el estudio se determinará la resolución del embarazo a partir de la información obtenida por consignación clínica.

Criterios de inclusión.

1. Embarazo único de entre las semanas 18 a 22 de gestación por fecha de última menstruación .
2. Confirmado por ultrasonografía.
3. Edad entre 15 a 40 años.
4. Que presenten o no datos de cervicovaginitis.

Criterios de no inclusión.

1. Embarazo gemelar.
2. Pacientes cardiópatas, diabéticas, hipertensas, lúpicas, enfermedades autoinmunes, VIH.
3. Pacientes que no deseen participar en el estudio.

### 5.3 Definiciones operativas.

- RPM. La salida de líquido amniótico a través de una solución de continuidad de las membranas ovulares sin trabajo de parto, su diagnóstico se establecerá por historia clínica, especuloscopia con maniobra de Tarnier y/o Valsalva y/o disminución de líquido amniótico por medido por ultrasonografía en su caso. La presencia de líquido amniótico en vagina será confirmado por al menos con uno de los siguientes métodos: cristalografía, papel de nitrazina, y determinación de alfa-fetoproteína
- Trabajo de parto. Se define como la presencia de actividad de contracción uterina aumentada en frecuencia, intensidad y duración, acompañada de modificaciones cervicales. El trabajo de parto a término se define con la edad gestacional de 37 a 41 semanas.
- Edad gestacional se calcula a partir del primer día de la fecha de última menstruación y será confirmada por ultrasonido.

### 5.4 Obtención de producto biológico.

Se colocará a la paciente en posición de litotomía, posteriormente se colocará espejo vaginal y se obtendrá exudado cervicovaginal utilizando hisopo estéril mediante rotación desde orificio cervical interno en forma circular hasta vagina de manera distal a proximal. Las muestras serán colocadas en medios adecuados para transporte y posterior análisis en el laboratorio de bacteriología del departamento de infectología e inmunología perinatal y ultramicroscopía electrónica.

Se obtendrán 5 ml de sangre periférica, para determinación del polimorfismo de IL-1ra, que serán analizadas por medio de la técnica de PCR.

---

Las mujeres que reúnan los criterios anteriores serán invitadas a participar en el estudio mediante una carta de consentimiento informado. A su ingreso a Consulta Externa se realizarán las siguientes maniobras.

1. Examen clínico e historia clínica completa.
2. Examen de genitales externos y cérvix.
3. Pruebas de laboratorio.
  - a. Toma de exudado cérvico-vaginal para cultivo de secreciones con búsqueda selectiva de *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans*, *Mycoplasma hominis*, *Trichomona vaginalis*, será seguido de la identificación del serovar específico, su crecimiento y formación de cepario.
  - b. Examen en fresco para identificar vaginosis bacteriana, *Trichomona vaginales* y *Gardnerella vaginalis*.
  - c. Purificación de leucocitos de 5 mL de sangre venosa periférica de la misma toma de BH para purificación de DNA.
  - d. Identificación del polimorfismo del gen IL-1ra.

## 5.5 Variables en estudio.

**Variables independientes.**

1. Gen IL-1ra

**Variables dependientes.**

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

## 5.6 Cálculo de la muestra.

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

Se supone que las mujeres con RPM tendrán una frecuencia del gen polimórfico de IL-1ra alelo 2 mayor a 20%.

$$N = \left| \frac{Z\alpha \sqrt{\pi(1-\pi_0)} - Z\beta \sqrt{\pi_1(1-\pi_1)}}{\pi_1 - \pi_0} \right|^2 = 50$$

---

## VI. Resultados

Se incluyeron un total de 117 pacientes captadas en el Instituto Nacional de Perinatología, en el periodo de Julio 2002 a Julio 2004 de las cuales encontramos 94 mujeres con embarazo a término y 23 con ruptura prematura de membranas.

La edad promedio para las mujeres con embarazo a término, fue de 25 años con un valor mínimo de 14 y máximo de 42. Para las mujeres con ruptura prematura de membranas la edad promedio fue de 24.76 con un mínimo de 14 máximo de 40 con un valor  $P = 0.722$ .

El número de gestas en promedio en pacientes a término fue de 2 y con ruptura prematura de membranas de uno, con un valor  $p = 0.102$ . Con respecto a las semanas de gestación para embarazos a término la media fue de 38.5 semanas, mínimo 37 máximo de 41.2 y para embarazos con RPM la media fue de 36 mínimo 30.3 máximo de 39.6 SDG. El peso del producto al nacimiento para embarazo a término la media fue de 3100 g, mínimo 1800, máximo 4190 g; en pacientes con RPM la media fue de 2680 g, peso mínimo de 900 g peso máximo de 3930 g. Se encontró diferencia significativa en los grupos de embarazo a término y RPM  $p = <0.05$ , lo anterior se observa en la Tabla 1.

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

<b>Característica</b>	<b>Parto a Término</b>	<b>RPM</b>	<b>Valor P</b>
<b>Edad* (años)</b>	25.16 (14-42)	24.760 (14-40)	0.722
<b>No. De Embarazo<sup>1</sup></b>	2 (1-8)	1 (1-4)	0.102
<b>Edad Gestacional al Nacimiento del Producto (semanas)*</b>	38.84 (37-41.2)	36 (30.3-39.6)	<0.05
<b>Peso del producto Al nacimiento (g)*</b>	3100 (1800-4190)	2680 (900 -3930)	<0.05

\*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 ANOVA Rank Sum Test.

Se evaluó la diferencia del alelo 1 de IL-1ra en pacientes con RPM y embarazo de término, se presentó un valor de  $\chi^2 = 0.89$  con un valor  $p = 0.34$  y un OR de 1.52 con IC (95%) 0.72-3.19.

Se evaluó la diferencia del alelo del alelo 2 de IL-1ra en pacientes con RPM y embarazo de término, se presentó un valor de  $\chi^2=1.7$  con un valor  $p=0.19$  y un OR de 0.6 con IC(95%) 0.31-1.37.

Se comparó también por la presencia del polimorfismo del gen IL-1ra homocigoto 1:1 en embarazo de término y aquellos con RPM encontrando una valor de  $\chi^2=0.005$  con un valor  $p=0.94$  y un OR de 1.08 con IC(95%) =0.42-2.76.

Se comparó la presencia del polimorfismo del gen IL-1ra homocigoto o heterocigoto 1:2 o 2:2 en embarazo de término y con RPM encontrando un valor de  $\chi^2=0.16$  con un valor  $p=0.68$  y un OR de 0.9 con IC(95%)=0.36-2.35. Que se muestran en la Tabla 2.

**Tabla 2.-** Frecuencia, análisis y diferencia estadística del IL-1ra\*1 y del IL-1ra\*2 en pacientes con embarazo de término y RPM.

	A término (%)	RPM (%)	$\chi^2$ (valor P)	Relación de Momios (I.C. 95 %)
Por alelo 1	112/188 (59.7%)	27/46 (58)	0.89 (0.34)	1.5 (0.72-3.19)
Por alelo 2	74/188 (39.3)	19/46 (42)	1.7 (0.19)	0.65 (0.31-1.37)
IL-1ra homocigoto (1:1)	35/94 (37)	9/23 (39.1)	0.005 (0.94)	1.08 (0.42-2.76)
IL-1ra heterocigoto (1:2 o 2:2)	20/94 (21.2)	9/23 (39.1)	0.16 (0.68)	0.92 (0.36-2.35)

Análisis estadístico realizado mediante prueba Chi cuadrada.

Posteriormente también se buscó asociación entre la presencia de IL-1ra 1:1 e IL-1ra 1:2 ó 2:2 y RPM con la presencia de infección cervicovaginal por *G. Vaginalis*. Obteniendo que para la presencia del gen 1:1 y RPM no se encontraron dentro de la muestra ninguna paciente, en cambio para la presencia del gen 1:2 ó 2:2 se encontraron 7 pacientes, con una  $\chi^2 = 1.27$ , valor  $p = 0.07$ , relación de momios no determinada.

En la asociación del gen 1:1 y sin RPM encontramos 2 pacientes, en cambio para la presencia del gen 1:1 ó 2:2 se encontraron 13, con una  $\chi^2 = 0.04$ , valor  $p = 0.82$ , relación de momios no determinada. Datos que se muestran en la Tabla 3.

**Tabla 3.-** Mujeres portadoras de IL-1ra\*1 e IL-1ra\*2, en relación a la aparición de ruptura prematura de membranas, con cultivo positivo para *G. vaginalis*.

<b>G. Vaginalis</b>	<b>1:1</b>	<b>1:2 ó 2:2</b>	<b>Total</b>	<b><math>\chi^2</math> (valor P)</b>	<b>Relación de Momios (I.C. 95 %)</b>
<b>RPM (+)</b>	0	7	7	1.27 (0.070)	N.D.
<b>RPM (-)</b>	2	13	15	0.04 (0.82)	N.D.
<b>Total</b>	2	20	22		

Análisis estadístico realizado mediante prueba Chi cuadrada. N.D. = no determinado.

Con respecto a la presencia o no de RPM y asociación con IL-1ra 1:1 e IL-1ra 1:2 ó 2:2 con presencia de cultivo positivo para *Candida* spp. Obtuvimos que la presencia del gen 1:1 con RPM no se presentó ninguna paciente, en cambio en el gen 1:2 o 2:2 se presentaron 2 pacientes con una  $\chi^2 = 2.08$ , con valor  $p = 0.07$ , relación de momios no determinada.

En ausencia de RPM y la asociación con el gen 1:1 se presentaron 2 pacientes, en cambio para el gen 1:2 ó 2:2 se presentaron 18, con una  $\chi^2 = 0.7$  y una  $p = 0.41$ , con relación de momios no determinada. Datos que se muestran en la Tabla 4.

**Tabla 4.-** Mujeres portadoras de IL-1ra\*1 e IL-1ra\*2 en relación a la aparición de ruptura prematura de membranas, con cultivo positivo para *Candida* spp..

<b>Candida spp.</b>	<b>1:1</b>	<b>1:2 o 2:2</b>	<b>Total</b>	<b><math>\chi^2</math> (Significancia)</b>	<b>Relación de Momios (I.C. 95 %)</b>
<b>RPM (+)</b>	0	2	2	2.8 (0.070)	N.D
<b>RPM(-)</b>	2	18	20	0.7 (0.41)	N.D.
<b>Total</b>	2	20	22		

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

Por último se asocio la presencia de RPM con los alelos específicos para IL-1ra y cultivo positivo para *Candida albicans*. Se obtuvo que la presencia del gen 1:1 con RPM no se presentó ninguna paciente, para el gen 1:2 ó 2:2 se presentaron 3 pacientes con una  $\chi^2 = 3$ , con valor  $p = 0.07$ , relación de momios no determinada. En ausencia de RPM y la asociación con el gen 1:1 se presentaron 2 pacientes, en cambio para el gen 1:2 ó 2:2 se presentaron 18, con una  $\chi^2 = 0.6$  y una  $p = 0.41$ , con relación de momios no determinada. Datos que se muestran en la Tabla 5.

**Tabla 5.-** Mujeres portadoras de IL-1ra\*1 e IL-1ra\*2 en relación a la aparición de ruptura prematura de membranas, con cultivo positivo para *C. albicans*.

<b>C. albicans</b>	<b>1:1</b>	<b>1:2 ó 2:2</b>	<b>Total</b>	<b><math>\chi^2</math> (Significancia)</b>	<b>Relación de Momios (I.C. 95 %)</b>
<b>RPM(+)</b>	0	3	3	3.0 (0.07)	N.D
<b>RPM (-)</b>	2	18	20	0.60 (0.41)	N.D
<b>Total</b>	2	21	23		

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

---

## VII. Discusión

La ruptura prematura de membranas ha permanecido como la patología de mayor impacto sobre los valores de mortalidad neonatal. Los avances realizados al respecto han disminuido el valor de morbilidad y mortalidad debido a un avance en el manejo de la madre y el feto y posterior al nacimiento de este, sin embargo no se ha logrado disminuir la prevalencia del fenómeno.

Entender y explicar la aparición de ruptura prematura de membranas parte del hecho de la coexistencia de infección local o sistémica en un alto porcentaje de estas pacientes y ha sido manejado como una hipótesis la presencia de este proceso infeccioso que puede explicar la ruptura. Las actuales teorías que vinculan la infección con la RPM proponen dos accesos: 1) que los productos bacterianos por si mismos causan RPM ó 2) que la RPM sea consecuencia de mediadores que participan en la respuesta inmunitaria.

Las hipótesis de citocinas inflamatorias como mediadoras de la RPM se vincula con la capacidad de las citocinas IL-1beta, IL-6 y TNF-alfa son capaces de inducir síntesis de prostaglandinas PGE2 y PGF2 alfa y modulan la expresión y actividad de las metaloproteasas de matriz extracelular en células del epitelio amniótico. De esta manera al investigar dentro de la cascada inflamatoria la presencia de un bloqueador de esta respuesta como la IL-1ra, como en otras enfermedades como colitis ulcerativa, y relacionarlo con RPM puede darnos una mayor visión de la heterogeneidad de la respuesta entre diferentes grupos.

---

El presente estudio realizó la búsqueda dirigida del polimorfismo de IL-1ra, relacionado con una mayor capacidad de síntesis de IL-1ra con el alelo 2 en mujeres que presentaron RPM. Los resultados obtenidos mostraron la ausencia de relación en cuanto el alelo 2 de IL-1ra y la aparición de RPM, al analizar dicho alelo por arrastre o por frecuencia alélica. Sin embargo el análisis por arrastre asume que la presencia en forma homocigota o heterocigota de IL-1ra\*2, tendrá un efecto en la menor capacidad para bloquear la cascada inflamatoria que en aquellas pacientes portadores homocigotos para el IL-1ra\*1; provocando que se presente el fenómeno de la ruptura de membranas, pero en nuestro estudio no fue posible identificar una diferencia entre mujeres con RPM y embarazo a término.

Por otro lado, la colonización vaginal por *G. Vaginalis*, *Candida spp* y *Candida albicans* no explicó una diferencia entre el grupo con RPM y sin RPM, al asociarlo con la presencia de alelo 2 de IL-1ra.

---

## VIII. Conclusiones

Aunque se encontraron pacientes con el alelo 2 en ambos grupos, no se pudo establecer una diferencia que explicara el fenómeno de la RPM.

La ruptura prematura de membranas continua siendo un reto para los investigadores y los clínicos, sin embargo en la actualidad existen numerosos trabajos que están encaminados a descubrir una etiología real, solo en el Instituto Nacional de Perinatología esta entidad implica una mayor tasa de morbimortalidad fetal y un fuerte carga económica, es por esto que es de suma importancia tener nuevas opciones de prevención y terapéuticas adecuadas a cada caso en particular.

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

---

## IX. Bibliografía.

1. Mejía MA, Kunhardt J, Vadillo F, Bonfante E, Alfonso V. Rotura prematura de membranas. *Rev Perinatol* 1996; 11:8-12
2. Clinical Management Guidelines for Obstetrician-Gynecologists. Premature rupture of membranes. ACOG Practice Bulletin. Practice Bulletin Number 1, June 1988.
3. Ekwo EE, Gosselink CA, Woolson R, Moawad A. Risks for premature rupture of amniotic membranes. *Int J Epidemiol* 1993;22:495-503.
4. Frech J, Mc Gregor J. The pathobiology of premature rupture of membranes. *Seminars in Perinatology* 1996;20:344-68.
5. Sampson J. Fetal origin of amniotic fluid polymorphonuclear leukocytes. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:77-81.
6. Vadillo F, González G, Villanueva C, Karschmer S, Meraz N, Ayala A, Selman M. Collagen metabolism in premature rupture of membranes. *Obstet Gynecol* 1990;75:84-8.
7. Naeye RL. Factors that predispose to preterm rupture of the membranes. *Obstet Gynecol* 1982;60:63
8. Vadillo F, Bermejo L, Pfeffer F. Ruptura prematura de membranas: mecanismos de la enfermedad. *Perinatol Reprod Hum* 1994;8:180-9.
9. Hernández C, Tenorio J, Vadillo R, Arechavaleta F, Jiménez L, Ahued R, Beltrán J, Neri C. Factor de necrosis tumoral-alfa e interleucina-1 beta en los compartimientos intravascular materno, fetal y retroplacentario en parto pretérmino y pretérmino. *Perinatol Reprod Hum* 1999;13:227-37.
10. Slater D, Berger L, Newton R, Moore G, Bennett P. Expression of cyclooxygenase types 1 and 2 in human fetal membranes at term. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:77-82.

11. Kanayama N, Terao T, Kawashima Y, Horiuchi K. Collagen types in normal and prematurely ruptured amniotic membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1985;153:899-903.
12. Tarlow J, Blakemore A, Lennard A, Solari R, Hughes H, Steinkasserer A, Duff G. Polymorphism in human IL-1 receptor antagonist gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat. *Hum Genet* 1993;91:403-4.
13. Schectman G, Byrd JC, Gruchow HW. The influence of smoking on vitamin C status in adults. *Am J Public Health* 1989;79:159-62.
14. Martin. Premature rupture of membranes. *Clin Invest Gin Obstet* 1995;22:10-8.
15. Pfeffer F, Lobatón R, Reyes L, Luna A, Narcio L, Casanueva E. Ruptura prematura de las membranas corioamnióticas. Valor predictivo del estado de nutrición en vitamina C y la infección.
16. Polo E, Casanueva E, Tejero E, Meza C. Variación mensual de las concentraciones de ácido ascórbico en leucocitos durante el embarazo. *Perinatol Rep Hum* 1992;6:24-8.
17. Read J. The vaginal infection and prematurity. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168:514-9.
18. Laham N, Brennecke S, Bendtzen K, Rice G. Tumor necrosis factor during human pregnancy and labour: maternal plasma and amniotic fluid concentrations and release from intrauterine tissue. *Eur J Endo* 1994;131:607-14.
19. Roberts A, Monzon F, Van Deerlin P, Holder J, Macones G, Morgan M, Strauss J, Parry S. Association of polymorphism within the promoter of the tumor necrosis factor alpha gene with increased risk of preterm premature rupture of the fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:1297-1302.
20. Barton P, Gerber S, Baccus R, Skupski D, Witkin W, Chervenak F. Interleukin 1 receptor antagonist gene polymorphism and adverse pregnancy outcome en 207 pregnancies. *Am J Obst Gyn* 2001;185(Suppl 6); S115.
21. Romero R, Sepulveda W, Mazor M. The natural interleukin-1 receptor antagonist in term and preterm parturition. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167:863-5.

- 
22. Romero R, Tartakovsky B. The natural interleukin-1 receptor antagonist prevents interleukin-1 induced preterm delivery in mice. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167:1041-4.
  23. Arend W, Guthridge C. Biological role of interleukin 1 receptor antagonist isoforms. *Ann Rheum Dis* 2000;59S1:160-4
  24. Ming X, Schröder S, Hoefft A, Stüber F. Comparison of two polymorphisms of the interleukin-1 gene family: Interleukyn-1 receptor antagonist polymorphism contributes to susceptibility to severe sepsis. *Crit Care Me* 1999;27:9-13
  25. Tarlow J, Blakemore A, Lennard A, Solari R, Hughes H, Steinkasserer A, Duff G. Polymorphism in human IL-1 receptor antagonist gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat. *Hum Genet* 1993;91:403-4.