

11217



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

DETERMINACION DE INTERLEUCINA 6 EN EXUDADO
VAGINAL COMO FACTOR PREDICTIVO DE PARTO
PRETERMINO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

ESPECIALISTA EN GINECO-OBSTETRICIA

P R E S E N T A :

DR. JOAQUIN P. FERNANDEZ LARIOS

PROFESOR TITULAR: DR. JOSE ROBERTO AHUED AHUED

TITULARES: DR. FELIPE VADILLO ORTEGA

DR. TOMAS HERRERIAS CAÑEDO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

MEXICO, D. F.



INPer



INPer

DIRECCION DE ENSEÑANZA

2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Biblioteca Central

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM



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.

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA



DETERMINACIÓN DE INTERLEUCINA 6 EN EXUDADO CERVICOVAGINAL COMO FACTOR PREDICTIVO DE PARTO PRETÉRMINO

PROFESOR TITULAR: DR. JOSE ROBERTO AHUED AHUED

TITULARES: DR. FELIPE VADILLO ORTEGA

DR. TOMAS HERRERÍAS CAÑEDO

PRESENTA: DR. JOAQUÍN P. FERNÁNDEZ LARIOS

ÍNDICE.

1. Introducción.....	1
2. Epidemiología.....	1
3. Definición.....	2
4. Etiología.....	3
5. Fisiología de la contracción uterina.....	5
6. Marcadores pronósticos de parto pretérmino.....	8
7. Material y métodos.....	15
8. Resultados.....	22
9. Discusión y conclusiones.....	26
10. Bibliografía.....	29

INTRODUCCIÓN

El trabajo de parto pretérmino es uno de los principales problemas perinatales que hasta la fecha no ha podido ser prevenido. Aunque existen grandes adelantos dentro de los cuidados neonatales, no ha habido una disminución documentada consistente de la incidencia de neonatos prematuros de bajo peso al nacer.

La prematurez en todos los países es un problema de salud pública y la respuesta, en el caso de los países con recursos limitados, debe dirigirse a evitar el parto pretérmino, encontrando marcadores bioquímicos para detectar pacientes en riesgo de presentarlo y tomar medidas preventivas para evitarlo.

Además de advertir que prolongar la permanencia del producto en el útero es de vital importancia, y que la práctica de medidas clínicas apropiadas, en un medio clínico adecuado, se traducirá en beneficios para el feto, su familia y la sociedad en la que habitamos.

Ya que no conocemos íntimamente las causas desencadenantes, la acción debe enfocarse a la identificación de factores predisponentes para intentar su correlación y evitar la presentación del evento.

EPIDEMIOLOGÍA

En Estados Unidos, el parto pretérmino continua como la segunda causa de mortalidad neonatal calculándose en un 12%.¹ presentándose en países europeos entre el 5 y el 7%.² En América Latina, se expresa un promedio de 9% para todo el continente, las estadísticas internacionales señalan la participación de casi 75% de las muertes perinatales que corresponden a las complicaciones

de los neonatos de pretérmino y de una mortalidad hasta del 80% en todos los nacimientos.³

Aunque no contamos con estadísticas nacionales precisas, el parto pretérmino complica por lo menos 12% de todos los embarazos en nuestro país, con una mortalidad global del 38.4% dependiendo de los recursos para su atención, y una morbilidad expresada principalmente en la esfera neurológica que oscilan entre el 25 y 50%.⁴

La presencia del parto pretérmino es variable dependiendo de la edad gestacional. Se reporta que aproximadamente 70% de los casos se encuentran entre la semana 32 a 36 de gestación, disminuyendo a 20 % entre las semanas 28 a 32 y a un 10% inferior de 28 semanas.⁵

Las causas destacadas de morbimortalidad entre los neonatos de pretérmino son el síndrome de distrés respiratorio, la enfermedad de membrana hialina y la hemorragia intraventricular. La sobrevivencia neonatal en niños de pretérmino está directamente relacionada con su edad gestacional y el peso al nacer.

En las estadísticas norteamericanas se calcula el costo de l nacimiento de un producto pretérmino en aproximadamente \$36,134 (dólares americanos), siendo de \$11,209 el de un producto a término, aumentando considerablemente los costos institucionales.⁶

DEFINICIÓN

Se define como amenaza de parto pretérmino a la presencia de contracciones uterinas con una frecuencia de una cada 10 minutos, de 30 segundos de duración palpatoria, las cuales se mantienen durante una hora acompañadas de borramiento cervical del 50% o menos y una dilatación igual o menor de 3 cm. entre las semanas 20 a 37 de la gestación.³

Se define como trabajo de parto pretérmino a la dinámica uterina igual o mayor a la descrita para la definición de amenaza de parto prematuro pero con modificaciones cervicales tales como borramiento del cérvix mayor del 50% y una dilatación de 4 cm o más.⁷

ETIOLOGÍA

Existen numerosas controversias con respecto a sus causas, aunque desde el punto de vista epidemiológico se pueden listar una variedad de factores de riesgo que incrementan las posibilidades: la edad materna avanzada con más de 35 años y pacientes con menos de 15 años; el bajo peso materno antes del embarazo; el tabaquismo; la raza negra; el incremento de volumen uterino causado por embarazos múltiples o con polihidramnios; las malformaciones mullerianas, así como el antecedente de parto pretérmino; el abuso de drogas y las anomalías congénitas fetales.⁸

En la actualidad se han descrito varias teorías relacionadas con el parto pretérmino, una de ellas menciona la caída de la progesterona la cual postula que conforme el embarazo llega a término el eje feto-suprarrenal se torna más sensible a la hormona adenocorticotropa que aumento el cortisol.

El cortisol fetal estimula la actividad trofoblástica de la 17 alfa-hidroxilasa, que presenta como efecto secundario la disminución de la secreción de progesterona con el subsecuente aumento de estrógenos. Esto a su vez promueve la producción de prostaglandinas y, de esta manera, la actividad uterina.

Otra teoría mas aceptada es la de la activación de la decidua, mediada en parte por el sistema parácrino fetodecidual, ya sea por una hemorragia uterina o por

una infección oculta en el aparato genital femenino, que activa la producción de prostaglandinas.

Se conoce con exactitud el cuadro clínico inmediato que lleva al nacimiento pretérmino y los factores demográficos y médicos que aumentan el riesgo de parto pretérmino en general. Sin embargo, aún no se comprenden con exactitud las vías fisiopatogénicas que conectan los factores de riesgo con el nacimiento pretérmino. Dentro de los factores mediadores que merecen mención se encuentran los infecciosos.

Existen cada vez más pruebas que implican a la infección, tanto decidual como de las membranas fetales y del líquido amniótico, como factor desencadenante del nacimiento pretérmino. La corioamnionitis clínica complica entre el 1 y 5% de los embarazos a término, pero en los nacimientos prematuros la incidencia aumenta hasta 25%, aproximadamente. En trabajos con pacientes con trabajo de parto pretérmino y en la búsqueda de factores infecciosos, se encontró que el líquido amniótico estaba colonizado en 19% incluso con membranas intactas y sin datos clínicos de infección. Los microorganismos que se han implicado con mayor frecuencia son el *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* y *Gardnerella vaginalis*. La vaginosis bacteriana es una alteración común de la flora vaginal que se ha observado entre 10 y 25% de pacientes en las clínicas de ginecología y obstetricia, en tanto que las que están sujetas a búsqueda de enfermedades de transmisión sexual alcanza hasta 64%.⁹ En un meta análisis reciente donde se realizaron 5 trabajos con mujeres con amenaza de parto pretérmino y presencia de vaginosis bacteriana se encontró que el uso de amoxicilina, clindamicina y metronidazol fueron eficaces para erradicar la infección. Sin embargo, este tratamiento no tuvo una inferencia significativa en el parto pretérmino.¹⁰

FISIOLOGÍA DE LA CONTRACCIÓN UTERINA

Los mecanismos que contribuyen a los patrones básico y cíclico de la contractilidad uterina al término del embarazo son muchos y muy variados. Apenas recientemente se describieron con detalle las interacciones de los diferentes sistemas encargados de esta actividad.

Estudios in vitro e in vivo han aumentado nuestros conocimientos acerca de la complejidad del control de la contractilidad del músculo liso uterino. Muchas disciplinas de la biología celular y molecular han documentado los procesos que participan en los sistemas de excitación, relajación, contracción.

Los conceptos de relación agonista receptor, generación de segundos mensajeros y regulación de la síntesis de proteínas específicas, han producido avances significativos en este campo. De interés particular es la expresión de importantes proteínas y el control potencial de los procesos genéticos en la regulación del trabajo de parto. Cabe señalar que el DNA especifica los tipos de proteína que se sintetizan en las células, tomando como plantilla al RNAm .

Existen pruebas de que la síntesis de nuevas proteínas en las células miométriales se vincula con el inicio del trabajo de parto. Varios sitios donde se regulan la síntesis proteica necesaria para los procesos celulares relacionados con la contractilidad uterina miométrial: receptores, segundos mensajeros y otros componentes principales.

A través de la regulación de la concentración intracelular del ion calcio como las células musculares, se relajan o contraen. El ion calcio es el principal mensajero intracelular en el músculo uterino, se requiere un aumento importante de este ion para la interacción de miofilamentos que producen la contracción. El incremento de la concentración citoplasmática de los segundos mensajeros, monofosfato cíclico de adenosina e inositol y trifosfato, modifica de manera

indirecta la contractilidad en sentido opuesto, regulando la contracción. La elevación en la concentración citoplasmática de AMPc favorece la relajación. Un aumento del P3 estimula la contracción, la inhibición y la contractilidad inducida por el AMPc. La importancia del control por agonistas y receptores de la síntesis de este nucleótido se han estudiado bien. Un concepto universal relevante del suceso contráctil de todos los músculos es la interacción de filamentos de miosina y actina para producir tensión, se requiere calcio durante esta interacción. Ciertos agonista que se unen a receptores del músculo liso estimulan las células para contraerse, aumentando la concentración intracelular de Ca- calmodulina, que después se enlaza con la cinasa de la miosina de cadena ligera, activándola. Esta activación produce la fosforilación de la cadena ligero de miosina, que a continuación interactúa con la trifosfato de adenosina y magnesio, estimulada por actina produciendo contracción.

El calcio no sólo es un mensajero primario para el inicio de la contracción, sino también de importancia en otros muchos sucesos celulares, incluyendo la actividad enzimática. La regulación celular del mismo calcio resulta fundamental para llevar a cabo estos mecanismos. El retículo sarcoplásmico sirve de reservorio intracelular de calcio. Durante la contracción, el calcio debe aumentarse más de 1 mm, lo que se logra por difusión pasiva del Ca^{2+} a través de conductos dependientes de voltaje o regulados por receptores que se abren por potenciales de acción. Los reservorios intracelulares de calcio para la contracción parecen ser resultado de la interacción agonista-receptor que produce la generación de un segundo mensajero como IP3 seguida por la liberación de calcio en el retículo sarcoplásmico. Para que ocurra la relajación el calcio debe ser menor de 0.1mm. Por tanto, un paso relevante en el ciclo de la relajación-contracción es la disminución del calcio. Se puede disminuir el calcio transportando este Ca^{2+} a través de la membrana plasmática, o secuestrándolo en el retículo sarcoplásmico. Esto implica un intercambio entre el calcio y el sodio en la membrana plasmática y la otra en el retículo sarcoplásmico. El estudio de

estas bombas ha llevado al de los genes que regulan su síntesis: Se conocen tres que codifican las bombas llamados serca 1, serca 2 y serca 3.

La fragmentación alternativa del mRNA de serca 2 produce las isoformas serca 2 y sercab, ésta última es la isoforma predominante de expresión. No obstante hay una pequeña cantidad de mRNA que se expresa para serca 3. También se han identificado secuencias de codificación para las bombas de calcio de la membrana plasmática (PMCA), codificadas por cuatro genes y de los cuales PMCA-1 expresa predominancia.

Con la fragmentación alternativa en un axón específico se expresan las cuatro isoformas, MPCA 1^a, PMCAc y MPCAd. Se desconoce la regulación de los sucesos que controlan la transcripción y traducción de estos genes. El conocimiento de estos mecanismos moleculares nos daría una mejor comprensión del control de contractilidad uterina debida al calcio.

El AMPc ejerce sus efectos por fosforilación de proteínas, catalizadas por una proteincinasa A. Estos sucesos mediados por enzimas pueden modificar la relajación en diversos sitios. A través de la PKA, el AMPc pudiera disminuir el Calcio libre al incrementar la unión o el transporte de Ca por ciertas proteínas. Además el AMPc puede cerrar uniones de tipo occludens disminuyendo la propagación de los potenciales de acción.

Se ha estudiado bien la ocupación de receptores B-Adrenérgicos que estimulan la adenilciclase. Este suceso es mediado por un complejo de proteína G, que interactúa con el receptor ocupado. Dicho complejo tiene interacción mínima con el receptor, si este no está ocupado. En el momento que se encuentra ocupado, ocurre interacción entre el receptor y la proteína G. El complejo de la proteína G interactúa con la denilciclase y permite la conversión del trifosfato de adenosina en AMPc y aumenta la contracción del último. El complejo de proteína G pudiera ser un sitio de regulación, mediante hormonas esteroideas, de los efectos de AMPc.

Los mecanismos que regulan la activación agonista receptor y el control de la transcripción-traducción de proteínas uterinas específicas son los mismos que finalmente regulan el inicio del trabajo de parto. La modulación de estos procesos pudiera permitir la inducción eficaz de trabajo de parto y una posible prevención del que ocurre antes de término.

MARCADORES PRONÓSTICOS DE PARTO PRÉTERMINO

Dada la importancia que conlleva el parto pretérmino se ha puesto gran énfasis en la búsqueda de variables bioquímicas y genéticas que permitan descubrir la existencia de un mayor o menor riesgo en su aparición. La condición óptima sería el desarrollo de un instrumento de detección, que permitiera predecir con certeza y a un bajo precio cuáles pacientes pudiesen presentar un parto pretérmino y, de esta manera, establecer medidas profilácticas para evitar este suceso o disminuir al mínimo el riesgo de presentar este evento. A pesar de contar con un arsenal farmacológico para el tratamiento del parto pretérmino, los resultados de los mismos no han sido satisfactorios en su totalidad.

La búsqueda de marcadores capaces de predecir la aparición del fenómeno podría llevarse a cabo, de manera dirigida, si conociéramos las causas que lo originan. Sin embargo, este es un proceso multifactorial. Tres grandes causas se relacionan con el parto pretérmino. La más común es la ruptura prematura de membranas amnióticas, causante del 30 al 40% de todos los casos del parto pretérmino. En un porcentaje similar el evento se presenta sin una causa aparente que lo desencadene. Por último entre un 20 y 30% resultan de las causas obstétricas.⁸

Proponer un método de detección que incluya las variables necesarias para identificar a las mujeres susceptibles de presentar el trastorno podría realizarse si conociéramos con precisión los mecanismos participantes en la regulación,

conservación y terminación del embarazo. Los métodos bioquímicos han identificado diversas moléculas capaces de fungir como marcadores de parto pretérmino. Las moléculas analizadas han mostrado valores diversos de sensibilidad y especificidad, con ventanas estacionales específicas para realizar el estudio, así como la aplicación sobre productos biológicos como saliva, plasma sanguíneo, líquido cérvico vaginal y líquido amniótico.^{11,12,13}

ESTRIOL EN SALIVA

El nivel de estriol en suero materno es un marcador específico de la actividad adrenal fetal. Estos niveles aumentan progresivamente a lo largo del embarazo, observándose un incremento importante que precede en 3 o 4 semanas al momento del nacimiento, tanto en partos de término como en pretérmino. Los niveles de estriol en saliva se correlacionan directamente con los niveles de estriol séricos.

McGregor, et. Al. encontraron que los valores de E3 menores a 2.1 ng/ml predijeron nacimientos antes de las 37 semanas de gestación con un OR de 3,4 y un ICE de 95%. Al repetir la prueba una semana después y encontrar niveles mayores a 2.1 ng/ml el RR de nacimiento pretérmino se incrementaba a 6,86. Al tener 2 pruebas positivas consecutivas se asociaron con un intervalo al nacimiento de 2.3 semanas.¹¹

Diversos investigadores han descubierto que un nivel mayor a 2 ng/ml de estriol en saliva predice el riesgo de parto pretérmino y afirman que podrían integrarse a la rutina del embarazo para identificar pacientes de riesgos y evitar intervenciones innecesarias.^{11,12}

PRUEBA RÁPIDA DE DETECCIÓN CERVICAL DE PHIGFBP

Lembet, Eroglu, et al. realizaron un estudio prospectivo para evaluar si la detección del factor de crecimiento tipo insulina fosforilada unida a la proteína 1, por inmunocromatografía en secreciones cervicales, predecían el nacimiento pretérmino en pacientes con contracciones regulares. La phIGFBP es segregada por las células desiguales y se filtra en la secreción cervical cuando las membranas fetales se despegan de la decidua. De 36 pacientes con contracciones regulares, 18 tuvieron una prueba positiva y 18 una prueba negativa. De las 18 mujeres con prueba negativa sólo 2 tuvieron nacimiento pretérmino y entre 17 a 18 con test positivo finalizaron en parto pretérmino. La sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo del test fue de 89.5, 94.1, 94,4 y 88.9% respectivamente. Estos resultados son prometedores dado que es un test rápido y de fácil aplicación.¹⁴

MONITOREO DE LAS CONTRACCIONES UTERINAS

El monitoreo de la frecuencia de las contracciones uterinas fue propuesto como un método diagnóstico para reducir la incidencia de parto pretérmino. Se postuló que en las pacientes que presentaran un parto pretérmino se observará aumento de las contracciones por lo menos 24 hrs. antes del mismo. Dado que el aumento de la frecuencia de las contracciones uterinas se ha considerado que puede conducir a un parto pretérmino, las estrategias para detectarlas y suprimirlas en su inicio han sido necesarias para reducir la incidencia del parto pretérmino. Sin embargo, la evidencia de los ensayos clínicos aleatorizados indica que estas estrategias no reducen la tasa de prematuridad. La frecuencia de contracciones está significativamente relacionada con el parto pretérmino, pero esta medida tiene baja sensibilidad y valor predictivo positivo como para ser

utilizada como prueba de tamizaje para el parto pretérmino inminente, en las mujeres sintomáticas.

No se ha encontrado evidencia hasta el momento de que el uso de este método pueda afectar la incidencia de parto pretérmino.²⁵

FIBRONECTINA FETAL

Durante la implantación del saco gestacional, la fibronectina generalmente aparece en secreciones cervicovaginales. Su presencia es frecuente hasta la semana 20 y se encuentra 10% detectable en la semana 24. Posteriormente esta desaparece, y se vuelve positiva al término del embarazo. Esta característica ha podido establecer una ventana de relevancia clínica, utilizada como indicador confiable de amenaza de parto pretérmino real, se ha evaluado la fibronectina cervical en diferentes entidades mostrando su utilidad en mujeres examinadas entre las 24 y 34 semanas de gestación con signos y síntomas de amenaza de parto pretérmino, que tenían amnios íntegro y menos de 3 cm. Una prueba negativa de menos de 50 ng/ml descarta prácticamente un parto pretérmino en menos de 2 semanas. Sin embargo, una prueba positiva de más de 50ng/ml obliga al tratamiento de la paciente ya que puede presentar parto pretérmino.^{15,16}

Chien en un meta análisis publicado en el Cochrane Library analizó 27 estudios prospectivos midiendo la fibronectina a las 24, 26, 28 y 30 semanas en pacientes sintomáticas y tomó como variables resultantes el parto antes de las 34 semanas. Se encontró una sensibilidad del 61 y especificidad del 84%. Como predictor de parto antes de los 7 días presentó una sensibilidad del 89 y una especificidad del 86%, el factor de riesgo de una prueba positiva se calculó en 5.0.¹⁷ Con ello la fibronectina cervical puede ser muy útil como marcador pronóstico para definir pacientes que deben ser sometidas a tratamiento intensivo con el uso de toco líticos y corticoides.

CITOCINAS CERVICOVAGINALES

Las citocinas son un grupo de proteínas sintetizadas por diversas células de estirpe inmunitaria y no inmunitaria que median una gran cantidad de actividades biológicas. Se ha observado que las citocinas participantes en la regulación del proceso inflamatorio juegan un rol importante en los mecanismos del inicio de trabajo de parto.¹⁸ Se han utilizado como factores pronósticos para el diagnóstico del parto pretérmino. La relevancia de este grupo de moléculas en las etapas iniciales del trabajo de parto se pone de manifiesto dada la gran cantidad de procesos en los que participan, ya sea activando el fenómeno o reforzándolo de manera sinérgica con otras moléculas. Tanto en modelos animales como en muestras obtenidas de líquido amniótico de mujeres que presentaron trabajo de parto pretérmino, se ha observado un aumento en la concentración de citocinas IL-1, IL-6 y TNF- α , en líquido amniótico y en secreciones cervicales.¹⁸

Las citocinas IL1B, IL-6 y TNF- α , son producidas por diversas estirpes celulares presentes en la interfase materno fetal identificándose su presencia en el ámbito de expresión de RNAm en células del amnios, así como en células de la decidua. A partir de muestras obtenidas en diferentes etapas de la gestación de mujeres con trabajo de parto a término y pretérmino. Además, estas interleucinas son capaces de mediar y aumentar la capacidad úterotónica, ya que inducen la síntesis de prostaglandinas PGE2 y PGF2alfa en células amnióticas, coriónicas, deciduales y miometriales, al cultivarlas in vitro.

Harirah en el 2002 utilizó la determinación de IL-6 en combinación con una metaloproteinasa (MMP9) en líquido amniótico de embarazadas entre la semana 22 y 35 que presentaban datos de actividad uterina, y trabajo de parto o RPM o con sospecha clínica de infección intraamniótica. Los resultados en los casos de infección intraamniótica determinada por cultivo de bacterias positivo

demostraron alta diferencia estadística entre las muestras provenientes de embarazos con infección comparadas con las muestras de embarazos sin infección. Un valor de correlación entre ambas moléculas de 0.813 con pendiente positiva, así como de 0.018, que indica una P menor a 0.001, al relacionar la cantidad de leucocitos determinados en el ambiente amniótico. Sin embargo, este grupo de pacientes presentaban infección y por ende un riesgo importante de parto pretérmino. Además, las muestras provenían de un ambiente amniótico para lo cual se requiere equipo y personal calificado para obtener la muestra.¹⁹

La realización de estudios de interleucinas en secreciones cervicovaginales ha revelado ser de gran utilidad y fácil obtención. Kurkine-Raty, en el 2001 evaluó la presencia de IL-6 e IL8 e índice cervical medido por ultrasonografía observando que la combinación de estos marcadores muestran un valor con un IC de 95, especificidad de 97 y sensibilidad de 30%. Se realizó, además una combinación de IL-6, IL8, índice cervical medido por ultrasonografía y determinación de IGFBP-1, con resultados muy similares a la anterior con un IC de 95, especificidad de 98 y sensibilidad de 10%.²⁰

Por otro lado, estudios clínicos han mostrado que una elevación en la proteína C reactiva precede el desarrollo de la corioamnioitis clínica y por consiguiente al trabajo de parto pretérmino. Además en pacientes con trabajo de parto pretérmino con proteína C reactiva elevada responden en forma menos favorable a la tocolisis.

Debido a que la IL-6 juega un rol crítico en la síntesis de la proteína C reactiva, se han hecho hipótesis de que esta citocina es el principal mediador del daño tisular. Asimismo, se ha demostrado que niveles elevados de IL-6 en el líquido amniótico produce el incremento de otras citocinas. Estas investigaciones sugieren que la IL-6 es la citocina más importante en la fisiopatología del parto pretérmino con infección.^{22,23}

La IL-6 es una citocina menester en la cascada de la respuesta inmune del humano a la infección. La IL-6 activa la respuesta en fase aguda, estimula los linfocitos T, e induce diferenciación terminal de linfocitos B. Además induce, como ya hemos mencionado, la producción de proteína C reactiva.

Se ha visto el aumento de las concentraciones de IL-6 a nivel materno en suero y líquido amniótico en el parto pretérmino. Algunos estudios mencionan un polimorfismo en la posición 74 de la IL-6 en el cromosoma 7 como productor y promotor de la producción de la citocina.²⁴

Goepfert, et al, realizaron un estudio en el cual relacionaron el aumento de las concentraciones cervicales de la IL-6 y el parto pretérmino. Dicho estudio menciona que no existe una relación significativa entre las infecciones vaginales y el parto pretérmino. Sin embargo, la relación entre las concentraciones de IL-6 en cervix y el parto pretérmino no fue significativo.

Por otro lado, un estudio en el cual se comparó citocinas cervicovaginales y dilatación cervical, sólo la IL-6 demostró habilidad para predecir el nacimiento inminente a una dilatación cervical de 1cm y FNT positivo.²¹

De aquí la importancia de la interleucina 6 cervical como probable factor pronóstico para el diagnóstico temprano de pacientes que desencadenarán trabajo de parto pretérmino, siendo ésta fácil de tomar sin necesidad de gente especializada, pudiendo llegar a tener un precio bajo y servir como tamiz para el diagnóstico de parto pretérmino.

JUSTIFICACIÓN:

- El parto pretérmino representa un problema de salud dada su fuerte asociación con morbilidad neonatal elevada, que acarrea costos elevados de la atención hospitalaria y lo más importante es que existe pronóstico poco favorable para el neonato de integrarse a la sociedad en forma adecuada. Desafortunadamente no existen medidas útiles para predecir su desarrollo y las medidas terapéuticas son paliativas, por ello cualquier esfuerzo para desarrollar métodos que permitan identificar de manera temprana a las mujeres embarazadas en riesgo a presentar parto pretérmino deben ser exploradas. En los últimos años se ha incrementado el conocimiento de los factores que propician el desarrollo del parto pretérmino y así, es posible proponer nuevos elementos como marcadores predictivos del proceso.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿La concentración de interleucina-6 (IL-6) en exudado cervicovaginal es un factor pronóstico adecuado para predecir parto pretérmino en mujeres con diagnóstico clínico de amenaza de parto pretérmino?

HIPÓTESIS:

La determinación de concentraciones elevadas de IL-6 en exudado cervicovaginal de mujeres con amenaza de parto pretérmino permite identificar a aquellas que desarrollarán parto pretérmino.

OBJETIVOS:

I. OBJETIVO GENERAL:

Analizar la utilidad de la determinación de la IL-6 en exudado cervicovaginal como marcador predictivo del desarrollo de parto pretérmino en pacientes con diagnóstico clínico de amenaza de parto pretérmino.

II OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

A) Cuantificar la IL-6 en exudados cervicovaginales de pacientes con diagnóstico clínico de amenaza de parto pretérmino y correlacionar su concentración con el desarrollo de parto pretérmino.

B) Analizar la utilidad clínica de la IL-6 como factor predictivo de parto pretérmino contra el estándar de oro vigente.

CRITERIOS DE SELECCIÓN.

Criterios de inclusión para los casos:

- a) Pacientes con diagnóstico clínico de amenaza de parto pretérmino.
- b) Pacientes que acepten ingresar al estudio y hayan firmado carta de consentimiento informado.

CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN.

- a) Pacientes que presenten a su ingreso por amenaza de parto pretérmino complicaciones obstétricas tales como placenta previa, malformaciones fetales mayores, preeclampsia, epilepsia, desprendimiento prematuro de

placenta normo inserta, ruptura prematura de membranas, incompetencia ístmico-cervical o embarazo múltiple.

CRITERIO DE ELIMINACIÓN:

1. Pacientes cuya resolución del embarazo no se lleve acabo en el INPer

Unidades de estudio: Pacientes del INPer que cumplan con los criterios de inclusión.

DESCRIPCION DE LAS VARIABLES.

VARIABLE INDEPENDIENTE :

Concentración de Interleucina- 6 en exudado cervicovaginal.

Definición conceptual: La interleucina-6 es una citocina involucrada en la regulación del proceso inflamatorio y participa como un amplificador de la respuesta. Además muestra capacidad para estimular la diferenciación y proliferación de células hematopoyéticas.

Definición operacional: Se cuantificará la concentración de IL-6 en exudado cervicovaginal de mujeres con diagnóstico de amenaza de parto pretérmino.

Tipo de variable dependiente: Cuantitativa continua.

Nivel de medición: Escala en pg/mL

VARIABLE DEPENDIENTE:

Parto pretérmino

DEFINICION CONCEPTUAL PARTO PRETERMINO

Aquel nacimiento que ocurre antes de las 37 semanas y después de las 20 semanas de edad gestacional de acuerdo a la fecha de última menstruación.

DEFINICIÓN OPERACIONAL DE PARTO PRETERMINO

Nacimiento que ocurrió después del diagnóstico de amenaza de parto pretérmino (hecho en el servicio de urgencias del INPer) que ocurrió antes de las 37 semanas de acuerdo a la fecha de última menstruación o por edad gestacional corroborada por ultrasonido del primer trimestre.

Tipo de variable dependiente: Dicotómica.

Nivel de medición: Presente o ausente.

DISEÑO DEL ESTUDIO.

Cohorte prospectiva comparativa

INTENCIÓN CLÍNICA:

Factor pronóstico.

TIPO DE MUESTREO

No Probabilístico de Casos Consecutivos

TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Se incluyeron en el estudio a todas las pacientes que ingresaron al INPer y en las que se estableció diagnóstico de amenaza de parto pretérmino en el periodo comprendido del 25 de Febrero del 2004 al 10 de Agosto del 2004.

ANALISIS ESTADISTICO.

Estadística descriptiva para definir las características de la población y teorema de Bayes para cálculos de sensibilidad y especificidad.

ASPECTOS ÉTICOS

Este estudio tiene un riesgo mínimo por requerir de una toma de muestra de exudado cervicovaginal.

DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO.

El grupo de estudio será conformado por las pacientes que ingresan con diagnóstico de amenaza de parto pretérmino al Instituto Nacional de Perinatología, que acepten mediante consentimiento informado participar en forma voluntaria, obtener datos de variables consignadas en el expediente clínico y permitir la toma de una muestra de secreción cervicovaginal la cual se transportará en tubos con un medio específico que permite preservar las muestras hasta su análisis a -20 °C.

Protocolo clínico.

Reclutamiento de pacientes. Las pacientes que participaron en el estudio se reclutaron en la consulta de Urgencias y en el caso de ser dadas de alta, se les instruyó a reportar su ingreso consecutivo. En el momento del ingreso, se les evaluó conforme a la Norma Institucionalⁱ y se realizaron las siguientes maniobras:

1. Examen clínico e historia clínica completa

- 1.1 Examen físico completo.
- 1.2 Diagnóstico de edad gestacional por fecha de última menstruación y confirmación por ultrasonido.
- 2. Pruebas de laboratorio
 - 2.1 Exudado vaginal
 - 2.1.1 Cultivo microbiológico completo.
 - 2.1.2 Determinación de IL-6 por ELISA
 - 2.1.3 Determinación de fibronectina oncofetal (fnOnc) por método rápido.
 - 2.2 Biometría hemática completa.

Las pacientes fueron invitadas a participar cuando se estableció el diagnóstico de amenaza de parto pretérmino, que fue definido como presencia de actividad uterina aumentada en frecuencia, intensidad y duración, acompañada de modificaciones cervicales antes de las 37 semanas completas de embarazo.

Todos los expedientes de las pacientes incluidas fueron controlados por los investigadores participantes para verificar la edad gestacional al momento de resolución del embarazo. Se consideró parto pretérmino cuando se desarrolló parto espontáneo en embarazos con edad gestacional menor de 37 semanas.

Determinación de interleucina-6. Este sistema requiere de la toma de exudado cervicovaginal del fondo de saco utilizando un hisopo de dacrón estéril y una solución transportadora en la que se deposita la punta del hisopo. La cuantificación de la proteína se realizó mediante un sistema de inmunoensayo enzimático (ELISA) que utiliza un diseño tipo "sándwich" en microplacas de 96 pozos (Nunc Maxisorp, Denmark). El anticuerpo primario se inmovilizó con 250 ng/pozo mediante incubación a 4°C toda la noche (anticuerpo monoclonal anti-IL-6 humana, R&D Systems, Minneapolis, U.S.A.). El anticuerpo que no se unió fue removido lavando la placa con buffer de fosfatos PBS (Phosphate Buffered Saline Dulbecco's, Gibco, BRL, Bethesda U.S.A.) pH 7.4 con 0.05% de Tween 20 (PBS-Tween). La microplaca fue bloqueada con 300 µl por pozo de PBS con 1% de BSA, 5% de sacarosa y 0.05% de NaN₃ por 3 h a temperatura ambiente (TA).

La curva estándar con IL-6 recombinante humana (R&D Systems, Minneapolis, U.S.A.) mostró sensibilidad de 15.6 pg/ml en un rango lineal de 20-1000 pg /mL. 100 uL de cada standard o muestra fueron incubados toda la noche a 4°C, las microplacas se lavaron nuevamente 3 veces y se incubaron con 25 ng/pozo por 2h a TA con el anticuerpo policlonal-biotinilado anti IL-6 (R&D Systems, Minneapolis, U.S.A.), Una vez transcurrido este periodo la microplaca fue incubada con 9.0 ng/pozo de conjugado estreptavidina fosfatasa alcalina (Gibco BRL, Bethesda, U.S.A.), posteriormente cada pozo fue incubado con 100µg de p-nitrofenilfosfato (SIGMA, St Louis, U.S.A) como sustrato. La reacción fue leída y cuantificada a 410 nm en un lector de microplacas (DYNATECH MR 500, USA). Los datos de concentración de IL-6 fueron clasificados como positivos o negativos utilizando el punto de corte para secreciones cervicovaginales sugerido por Jong (), que es de 350 pg/mL. Con estos datos se calculó en tablas de contingencia los valores de sensibilidad y especificidad de la prueba.

Determinación de fibronectina oncofetal. Se utilizó la determinación de fibronectina oncofetal en secreciones cervicovaginales como marcador pronóstico para parto pretérmino. Se utilizó la versión rápida del método que consiste en un sistema de lectura en un dispositivo tipo tira reactiva o "dipstick", equivalente al usado en las pruebas caseras para pruebas de embarazo. La tira reactiva contiene anticuerpos monoclonales inmovilizados en fase sólida dirigidos contra la fibronectina oncofetal y una tira control que valida al instrumento individual. Cuando el sistema revela la presencia de fibronectina oncofetal aparece una línea de color azul con intensidad variable. Este sistema requiere de la misma toma de exudado cervicovaginal del fondo de saco señalada en la sección previa. Una alícuota de la solución en la que se depositó la punta del hisopo, se agrega en la cámara del dispositivo de detección y se incuba durante 20 minutos a temperatura ambiente y después se lee en un detector de la intensidad de la banda. Este equipo se encuentra precalibrado para interpretar una lectura como positiva cuando la concentración de la fibronectina en la muestra de secreción cervicovaginal es superior a 50 µg/mL.

Este nivel de corte ha sido definido por la compañía que fabrica el dispositivo y es equivalente al utilizado en el sistema de ELISA que comercializa la misma compañía (Adeza Biomedical, Palo Alto, CA, USA).

Estándar de oro. Los valores pronósticos de las prueba rápidas de fibronectina oncofetal y de IL-6 fue calculado con base en el desarrollo de parto pretérmino documentado de manera directa por los investigadores involucrados. La fibronectina oncofetal se considera a su vez el estándar de oro para pronóstico de parto pretérmino, razón por la que también se comparó como tal con la determinación de IL-6.

Análisis estadístico. Las características de la población estudiada fueron analizadas con estadística descriptiva. Los resultados de la prueba de IL-6 y fnOnc fueron analizados en tablas de contingencia para analizar la sensibilidad y especificidad, así como los valores pronósticos positivo y negativo. Asimismo se calculó riesgo relativo e intervalo confianza, la significancia se calculó por χ^2 cuadrada.

RESULTADOS

Se analizaron 153 pacientes consecutivas que acudieron al INPer entre el 25 de Febrero del 2004 al 10 de Agosto del 2004 que reunieron los criterios de inclusión, sus características clínicas generales se resumen en el **Cuadro 1**.

Cuadro No 1
Características generales de la muestra.
Instituto Nacional de Perinatología. 2004

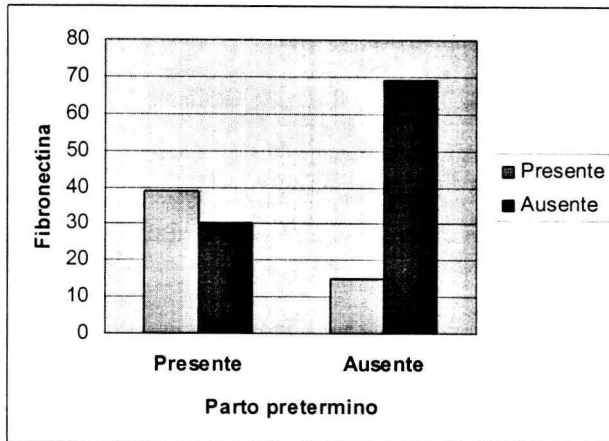
Características generales.	
Edad	22 ± 1.2
Gestas	3 ± 1.1
Para	1 ± 1.2
Cesáreas	1.5 ± 0.9
Abortos	0.8 ± 0.1

Del total de ellas, 69 desarrollaron parto pretérmino dentro de las dos semanas siguientes a su ingreso a urgencias, lo que equivale al 45%, el resto, 87 pacientes, llegaron a término sin otra complicación. La prueba de fibronectina fue positiva en 54 pacientes, de las cuales 39 fueron verdaderos positivos. Por otro lado, 99 pacientes presentaron prueba negativa, con 69 verdaderos negativos (Cuadro 2 / Gráfico 1).

Cuadro No 2
Fibronectina fetal en relación a Parto pretérmino
Instituto Nacional de Perinatología. 2004

Fibronectina fetal	Parto pretermino	
	Presente	Ausente
Presente	39	15
Ausente	30	69

Gráfico No 1
Fibronectina fetal en relación a Parto pretérmino
Instituto Nacional de Perinatología. 2004



Con esta información el riesgo relativo para desarrollar parto pretérmino cuando la prueba fue positiva es de 2.38 con intervalo de confianza (95%) de 1.69-3.35, el valor de p de la prueba de χ^2 cuadrada fue de 1.5×10^{-6} . A partir de los datos del cuadro 2 se obtuvo una sensibilidad de 56.5%, especificidad de 82.1%, valor predictivo positivo 72.2% y negativo 69.9%. Al considerar el antecedente de existencia de un parto pretérmino previo como el factor de riesgo, se identificaron a 15 verdaderos positivos y 84 verdaderos negativos. Esto significa riesgo relativo de 2.1 con IC (95%) 1.58-2.85, con p de 0.0009. Al considerar a la infección cervicovaginal como un factor de riesgo, se encontró que 18 pacientes se identificaron como verdaderos positivos y 18 como verdaderos negativos, con lo que el riesgo relativo fue de 0.42 con IC(95%) 0.28-0.64.

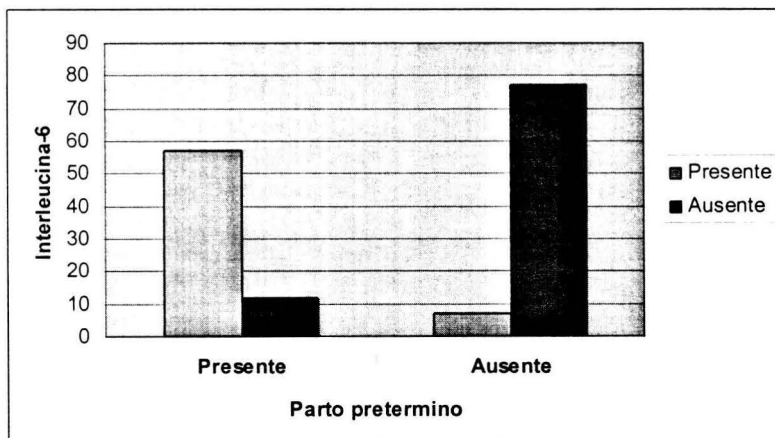
En el mismo número de pacientes se midieron niveles de interleucina-6 cervicovaginal, tomando la prueba como positiva con niveles superiores a 350ng/ml.²² La interleucina-6 cervical fue positiva en 64 pacientes de las cuales

57 desarrollaron parto pretérmino(verdadero positivo) y 7 pacientes no (verdadero negativo). La prueba fué negativa en 89 pacientes de las cuales sólo 12 desarrollaron parto pretermino(ver cuadro 3/gráfico 2). Analizando ésta información, tenemos un valor pronóstico positivo de 89%, valor pronóstico negativo de 86.5%. Teniendo un riesgo relativo de 6.6 con un IC(95%). Con una Sensibilidad de 82% y especificidad de 91.6%.

Cuadro No 3
Interleucina-6 cervicovaginal en relación a Parto pretérmino
Instituto Nacional de Perinatología. 2004

Interleucina-6 cervicovaginal	Parto pretermino	
	Presente	Ausente
Presente	57	7
Ausente	12	77

Gráfico No 2
Interleucina-6 cervicovaginal en relación a Parto pretérmino
Instituto Nacional de Perinatología. 2004



DISCUSIÓN :

El trabajo de parto pretérmino es un problema mundial, con repercusiones importantes a nivel de la morbilidad perinatal, que en especial en países subdesarrollados, comprende grandes consecuencias sociales.

El Instituto Nacional de Perinatología es un hospital de concentración, en donde se otorga servicio a pacientes con embarazo de alto riesgo. Se ha calculado que hasta un 15% de nuestras pacientes presentan parto pretérmino, porcentaje similar al reportado a nivel nacional (12%). Éste suceso, representa un aumento en los días de hospitalización de la madre y el recién nacido y por lo tanto, los costos asociados a éstos. Por lo anterior, es de gran importancia el desarrollo de pruebas a un bajo costo y no invasivas, que detecten en forma temprana, a pacientes con mayor riesgo de presentarlo.

Se desarrolló una prueba para detección de fibronectina fetal, de fácil y rápida lectura aún no utilizada en el mercado mundial, la cuál demostró tener una alta sensibilidad y especificidad comparables con los reportados en la literatura.^{15,16,17} Sin embargo, no se tiene suficiente experiencia con la misma y es necesario realizar estudios más amplios para comprobar su efectividad.

Es necesario considerar que en los países en vías de desarrollo el factor económico juega un papel importante y que, el nivel idóneo de atención para la salud es el preventivo. Los resultados obtenidos con la interleucina 6 demuestran que los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo, son muy similares a los demostrados con la fibronectina fetal. Sin embargo, su costo es notablemente inferior y su obtención menos invasiva, disminuyendo los riesgos implícitos a los que se someten pacientes con factores de riesgo para parto pretérmino.

Consideramos que el antecedente de parto pretermino es un factor de riesgo importante para presentar nuevamente el evento, ya que eleva el riesgo 1.1 veces en relación con la población en general. En el caso de la infección vaginal, se observa una disminución paradójica del 20%. Por lo que lejos de ser un factor protector, la presencia del mismo pudiera contribuir a instaurar un control prenatal más estrecho en relación al cuidado prenatal y con ésto realizar medidas preventivas o terapéuticas.

Con base a los resultados obtenidos, la interleucina 6 cervical reúne las características ideales para una prueba pronóstica como lo son: la accesibilidad, reproductibilidad, altos valores de sensibilidad, especificidad y bajo costo. Situaciones que en una población como la nuestra son de consideración importante, colocándonos en la posibilidad de prevenir y anticiparnos al máximo a las complicaciones resultantes del nacimiento de un producto pretérmino.

CONCLUSIONES

1.) La cuantificación de la concentración de IL-6, en exudados cervicovaginales en pacientes con diagnóstico clínico de amenaza de parto pretérmino tiene una correlación positiva en el desarrollo de parto pretérmino, siendo una prueba confiable para predecir el mismo, permitiendo modificar el curso clínico y pronóstico de la enfermedad.

2.) La utilidad clínica de la IL-6 como factor predictivo de parto pretérmino contra el estándar de oro vigente, resulta ser más conveniente, en lo referente a costo, accesibilidad, y valores de sensibilidad y especificidad, permitiéndonos con ello disminuir la morbilidad y el costo social que implica el nacimiento de un producto pretérmino.

3.) La determinación de concentraciones elevadas de IL-6 en exudado cervicovaginal (superiores a de 350pg/ml) de mujeres con amenaza de parto pretérmino permite identificar a aquellas que desarrollarán parto pretérmino de una manera tan confiable como la fibronectina fetal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. American College of Obstetrician and Gynecologists. Preterm labor. Washington; the College; 1995. ACOG Technical Bulletin No 206.
2. McCornick MC. The contribution of low weight to infant mortality and childhood morbidity. N Engl J. Med 1985;312:82-90.
3. Vasso E. Parto prematuro. clínicas perinatológicas Argentinas. 1996/1997: 1; 32-37.
4. Damman O. Increased Risk of Spastic diplegia among very low birth weight child after preterm labor or prelabor rupture of membranes; J Pediatr 1988. 123: 531-535.
5. ACOG Practice bulletin No.31 Assessment of risk factor for preterm birth. Obstet Gynecol 2001: 98:709-716.
6. Ross MG, Downey CA, Bemis Heys R. Prediction by maternal risk factors of neonatal intensive care admissions: Evaluation of 59,000 women in National management care programs. Am J Obstetr Gynecol 1999: 181: 835-842.
7. Kamineszky . Obstetricia y Perinatología. Principios y Práctica. Primera edición. 1992: 2: 1460.
8. Creasy KR, Resnik R. Preterm labor and delivery. Maternal fetal medicine: 3a edición: Editorial Saunders: Boston 1994: 494-520.
9. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm birth. N Engl J Med 2000: 342:1500-1507.
10. Goldenberg RL, Cliver SP, Bronstein J, Cutter GR, Andrew WW. Bed Rest in pregnancy. Obstetric Gynecol 1994: 84: 131-136.
11. McGregor J, Hasting C, Dulliev V. A Meta-analysis of salivary estriol as a mean to identify women at risk for preterm birth due to fetal-placental endocrine mechanism. Prim care Update Obs Gynecol 1998;5(4): 179.
12. Hayashi RH, Mozurewsh EL. How to diagnose preterm labor: A clinical dilemma. Clin Obstetr Gynecol 2000: 43(4):768-77.

13. Creasy RK, Gummer BA, Liggins GC. System for prediction spontaneous preterm births. *AM J Obstet Gynecol* 1980; 55: 692-695.
14. Lembet A, Eroglou D, et al. New rapid bed-side test to predict preterm delivery: Phosphorylated insuline-like growth factor binding protein-1 cervical secretions. *Acta Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001; 97: 154-158.
15. Lockwood CJ, Senyei AE, Diche MR, Casal D, Thung SN, et al. Fetal fibronectin in cervical and vaginal secretions as a predictor of preterm delivery. *N Engl J Med* 1991; 138: 537-43.
16. George C, Robert L et al. Vaginal fetal fibronectin levels and spontaneous preterm birth in symptomatic Women. *Obstetr Gynecol* 2001;97: 225-8.
17. Chien PF, Khan KS, Ogston S, Owen P. The diagnostic accuracy of cervicovaginal fetal fibronectin in predicting preterm delivery: An overview. *British Journal of Obstetrics And Gynecology* 1997; 104(4):436-444.
18. Coleman MA, Keelan, et al. Predicting preterm delivery: comparison of Cervicovaginal interleukin-1 Beta, IL-6, and IL-8, With fetal fibronectin and cervical dilatation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001; 97:154-158.
19. Locksmith GJ, Clark P, Duff P, Schultz GS. Amniotic fluid matrix metalloproteinase 9 levels in women with preterm labor and suspected intra-amniotic infection. *Obstetr Gynecol* 1999;94(1):1-6.
20. Kurkinen TM, Ruokonen M, Vuopala S, Koskela M, Rutanen EM, et al. Combination of cervical ultrasonography in assessment of de risk of preterm birth. *Br J Obstet Gynaecol* 2001;108:875-881.
21. Loockwood CJ, Ghini A, Wein R, Lapinski R, Casal D, Berkowitz RL. Increased interleukin 6 concentrations in cervical secretions are associated with preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171: 1097-102.
22. Kwan J, Hyun B, Romero R, Kim M, et al: Interleukin 6 determinations in cervical fluid have diagnostic and prognostic value in preterm premature rupture of membranes: *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: 868-73.

23. Rizzo G, Capponi A, Rinaldo D, Tedeschi D, Arduini D, et al. Interleukin 6 concentrations in cervical secretions identify microbial invasion of the amniotic cavity in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 812-817
 24. Simban H, Krown M, Roberts J, Zeevi A, Cartis S. Interleukin 6 promoter-174 polymorphism and spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:915-18.
 25. Committee opinion No 206. Washington, D.C. American College of Obstetricians and Gynecologists. Preterm labor. ACOG, 1995.
 26. Parry S, Strauss JF. Premature rupture of the fetal membranes. *N Engl J Med* 1998;338:663-70.
 27. Normas y Procedimientos de Ginecología y Obstetricia. 2002. Instituto Nacional de Perinatología, México, 2002.
-