

11217



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA  
ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES

EVALUACIÓN DE LA METALOPROTEINASA-9 COMO  
MARCADOR PRONÓSTICO DE LA EVOLUCIÓN DE LA  
AMENAZA DE PARTO PRETÉRMINO.

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

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
ESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA Y  
OBSTETRICIA

P R E S E N T A:

DR. JOSÉ MANUEL SEPTIÉN GUEVARA

*[Firma]*

PROFESOR TITULAR:

DR. VALENTÍN IBARRA CHAVARRÍA

TUTOR:

DR. FELIPE VADILLO ORTEGA

*[Firma]*



MÉXICO, D. F.

*[Firma]*

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

2005



DIRECCION DE ENSEÑANZA

0348339



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

## INDICE

NOMBRE: Jose Manuel  
Septien Guevara  
FECHA: 26 Septiembre 2005  
FIRMA: [Firma]

pág

I. MARCO TEORICO	2
INTRODUCCION	2
MORBILIDAD Y MORTALIDAD NEONATAL	3
FISIOPATOLOGIA	4
FACTORES DE RIESGO PARA PARTO PRETERMINO	6
MARCADORES BIOLOGICOS DE PARTO PRETERMINO	8
Monitorización de la actividad uterina en casa (MAUC)	9
Vaginosis Bacteriana	9
Estriol en saliva	10
Ultrasonido cervical	10
Otros marcadores	11
Fibronectina oncofetal	12
Metaloproteinasa 9 (MMP-9)	15
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
III. JUSTIFICACION	21
IV. OBJETIVOS	22
V. DISEÑO DEL ESTUDIO	23
VI. MATERIAL Y METODOS	24
VII. RECOLECCION DE DATOS	26
VIII. CONSIDERACIONES ETICAS	29
IX. ANALISIS ESTADISTICO	30
X. RESULTADOS	31
XI. DISCUSION	36
XII. CONCLUSIONES	39
ANEXO 1	40
ANEXO 2	41
XII. BIBILOGRAFIA	44

# I. MARCO TEORICO

## INTRODUCCION

El parto pretérmino, definido como el nacimiento antes de las 37 semanas de gestación, es un problema de salud con vigencia a escala mundial y México no escapa a ésta situación. (1) La Academia Americana de Pediatría en 1935 definió al parto pretérmino como el nacimiento de un producto con un peso de 2500 gramos o menos. Se hizo evidente que podía haber diferencias entre la edad gestacional y el peso por un retardo en el crecimiento intrauterino. La Organización Mundial de la Salud en 1961 puso como criterio para la definición el nacimiento a las 37 semanas (259 días) o menos de edad gestacional. El Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología (ACOG) en 1995 define al nacimiento pretérmino como aquel que se da antes de completar las 37 semanas. Se hizo diferencia por lo tanto de los recién nacidos prematuros de aquellos con bajo peso al nacer. (2)

Con el advenimiento de una mejor atención médica para los recién nacidos prematuros, se establecieron otras definiciones como: bajo peso al nacer en aquellos que pesan menos de 2500 g, muy bajo peso al nacer en aquellos con peso menor de 1500 g y peso extremadamente bajo al nacimiento en aquellos que pesan menos de 1000 g.

Las condiciones que hacen relevante al parto pretérmino, son la frecuencia con que se presenta y las complicaciones graves asociadas que afectan tanto a la madre como al producto. Aunque no contamos con estadísticas nacionales precisas, el parto pretérmino complica al menos 12% de todos los embarazos en nuestro país y sus consecuencias, que se extienden más allá del momento del nacimiento, lo hacen el servicio más caro en el ámbito de atención a la salud. (3)

El nacimiento pretérmino es la principal causa de morbilidad y mortalidad neonatal y es responsable del 80 a 90% de las muertes neonatales excluyendo aquellas que se deben a alteraciones congénitas letales. Dentro de sus causas no solamente está el parto pretérmino en pacientes con membranas corioamnióticas intactas, sino que también están aquellas que tienen ruptura prematura de membranas (RPM) en embarazos pretérmino y aquellas condiciones que ponen en riesgo la vida del feto (por un ambiente intrauterino adverso) o de la madre y que en esos casos es necesaria la interrupción del embarazo. Alrededor del 40% de los nacimientos prematuros son consecuencia del trabajo de parto prematuro y un 30% son consecuencia de RPM.

En Estados Unidos, la incidencia de parto prematuro era del 9.4% en 1981 pero ha aumentado a 10.6% en 1990, 11.6% en el año 2000 y 11.9% en el año 2001. Existen diferencias raciales en cuanto a la incidencia del parto prematuro pero no han sido explicadas. Las tasas de mortalidad entre 1990 y el 2001 aumentaron en Estados Unidos tanto para los caucásicos como para la población

hispanica viviendo en ese país, pero disminuyeron significativamente para aquellos de raza negra. Sin embargo, la población afro-americana tiene casi el doble de incidencia en comparación con los caucásicos y los hispanos. En el 2000, el 37.7% de los nacimientos antes de las 28 semanas de edad gestacional ocurrieron en pacientes afro-americanas.

En Inglaterra, ocurre un fenómeno parecido de acuerdo al North Thames database en el cual se incluyen 517,381 nacimientos. La edad de una gestación promedio en pacientes asiáticas y de raza negra fue de 39 semanas, en comparación con 40 semanas en el caso de pacientes europeas blancas. Los recién nacidos de las primeras pacientes mencionadas, necesitaron menos cuidados especiales cuando el nacimiento se presentaba antes de las 37 semanas, lo cual concuerda con la hipótesis de que éstos productos maduran más rápidamente. Desde la década de los 70's se ha reportado que los recién nacidos de raza negra tiene menor incidencia de enfermedad de membrana hialina ó síndrome de dificultad respiratoria (SDR) y la mortalidad neonatal en pacientes nacidos antes de las 37 semanas de raza negra en Estados Unidos es menor que aquellos de raza blanca.(4)

La edad gestacional se calcula generalmente por la fecha de la última menstruación (FUM) pero se ha visto que no es un indicador muy confiable para determinar la verdadera edad gestacional y en ocasiones tiene que ver con la condición socioeconómica de la paciente. El ultrasonido del primer trimestre es más efectivo para el cálculo de la edad gestacional en estos casos. Los estudios en embarazo postérmino han demostrado que la FUM es menos confiable que el ultrasonido del primer trimestre para el cálculo de la edad gestacional. (5)

## **MORBILIDAD Y MORTALIDAD NEONATAL**

La principal causa de mortalidad en el primer año de vida en Estados Unidos en el año 2000 fueron las malformaciones congénitas (142.2 por cada 100,000 nacidos vivos) y las complicaciones neonatales relacionadas con la prematuridad (130.5 por cada 100,000 nacidos vivos). En pacientes de raza negra la mortalidad en el primer año de vida se relacionó con el nacimiento prematuro en la mayoría de los casos (340.5 por cada 100,000 nacidos vivos, comparado con 171.8 por cada 100,000 nacidos vivos para las malformaciones congénitas). En Estados Unidos en el año 2000 la mortalidad en el primer año de vida para aquellos nacidos antes de las 32 semanas fue de 18%, de la semana 32 a 36 la mortalidad fue del 1% y los mayores de 36 semanas tuvieron una mortalidad del 0.03%. La mortalidad es directamente proporcional a los adelantos en el manejo de estos recién nacidos prematuros. En 1970, no se esperaba que sobreviviera un recién nacido menor de 28 semanas de edad gestacional. Según las publicaciones en Estados Unidos en el 2003, la mayoría de los recién nacidos con 25 semanas o más sobrevivirán y aquellos nacidos de más de 26 semanas lo harán sin discapacidades mayores. Esta demostrado que actualmente en la mayoría de los

centros hospitalarios con los adecuados cuidados perinatales la tasa de supervivencia es del 90% a las 30 semanas de edad gestacional. Existen varios factores que influyen en la supervivencia neonatal como es el peso (OR 0.38; 95% IC 0.29-0.49), el sexo femenino (OR 0.42; 95% IC 0.29-0.61), los pequeños para la edad gestacional (OR 0.58; IC 95% 0.38-0.88), el tratamiento prenatal con corticoesteroides (OR 0.52; IC 95% 0.36-0.76) y el tratamiento neonatal con surfactante. La infección intrauterina que en ocasiones acompaña al parto pretérmino tiene un efecto negativo en la mortalidad y morbilidad neonatal. (6)

Las entidades más comunes de morbilidad neonatal son el síndrome de distrés respiratorio (SDR), la hemorragia intraventricular, la displasia broncopulmonar, la persistencia del conducto arterioso, la enterocolitis necrotizante, la sepsis, la apnea, la retinopatía del prematuro, hiperbilirrubinemia, hipoglicemia, dificultades nutricionales y la inestabilidad térmica. La morbilidad importante es mayor al 60% en recién nacidos con peso entre 501 y 750 gramos y casi del 50% en recién nacidos entre 751 y 1000 gramos en un centro de tercer nivel. (7) La morbilidad a largo plazo también es importante. En aquellos con un peso al nacimiento menor de 750 g hay una mayor incidencia de parálisis cerebral, ceguera, menor tamaño cefálico, menor estatura y una deficiencia en las funciones cognitivas, académicas y de adaptación. Se ha visto también que el IQ es menor en los sobrevivientes que al nacimiento pesaron menos de 1500g en comparación con un grupo control (87 vs. 92) (8)

## **FISIOPATOLOGIA**

El nacimiento pretérmino se le ha denominado que es multifactorial por las múltiples entidades clínicas y factores de riesgo que lo preceden. Dentro de ellas están el trabajo de parto pretérmino, la RPM pretérmino, el embarazo múltiple, la preeclampsia, el desprendimiento prematuro de la placenta, la placenta previa, el sangrado transvaginal, el retardo en crecimiento intrauterino, las anomalías en el volumen del líquido amniótico, las malformaciones fetales, la corioamnionitis, la incompetencia istmo-cervical y enfermedades maternas como la diabetes, las enfermedades del tejido conectivo, la hipertensión, las infecciones sistémicas, la pielonefritis y la farmacodependencia todas ellas pueden llevar a un nacimiento pretérmino.

En general hay 4 mecanismos principales que son la causa de la mayoría de los partos pretérmino:

- a) Activación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (HHS) materno o fetal.
- b) Infección genital preexistente ó ascendente.
- c) Hemorragia en la decidua o desprendimiento prematuro de la placenta.
- d) Distensión uterina patológica (p.ej embarazos múltiples)

- La activación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (HHS) fetal puede ser causada por el estrés psicosocial materno y por alteraciones en la perfusión uteroplacentaria. Este mecanismo es responsable de un tercio de los partos pretérmino. La hormona liberadora de corticotropina (CRH) hipotalámica actúa en la hipófisis produciendo ACTH, la cual a su vez actúa en la glándula suprarrenal produciendo cortisol. El cortisol a su vez inhibe la producción de ACTH y CRH. La CRH se sintetiza en el trofoblasto y en las células de la decidua y su síntesis aumenta en la segunda mitad del embarazo, llegando al máximo durante el trabajo de parto y disminuye después del parto. La CRH aumenta la producción de prostaglandinas en la decidua y membranas. El cortisol disminuye la liberación de CRH hipotalámica pero aumenta la expresión de CRH en el trofoblasto y decidua lo cual lleva a la activación del eje HHS fetal y perpetuar el ciclo. El cortisol aumenta la expresión de la ciclooxigenasa tipo 2, la cual es esencial en la síntesis de prostaglandinas. Además del aumento en el cortisol fetal existe una síntesis aumentada de la dehidroepiandrosterona sulfato (DHEA-S) fetal, la cual se convierte en estradiol y estrona en la placenta y la forma 16-hidroxilada se convierte en estriol. Estos estrógenos activan al miometrio al aumentar las uniones intercelulares tipo "gap", aumentando la expresión de receptores para oxitocina, aumenta la síntesis de prostaglandina F2- $\alpha$ , la cinasa de cadenas ligeras de miosina y la calmodulina. La activación uterina y la producción de prostaglandinas llevan así al parto pretérmino. (9,10,11)
- Infección genital preexistente ó ascendente. Es responsable de un 50% de los partos pretérmino sobre todo en aquellos que ocurren antes de las 30 semanas. Las infecciones de las membranas y la decidua causan la activación de macrófagos que a su vez liberan citocinas como la interleucina (IL)-1 $\beta$  y el factor de necrosis tumoral (TNF)- $\alpha$ . Estas citocinas estimulan directamente la producción de prostaglandinas e inhiben la expresión de la 15-hidroxi prostaglandina deshidrogenasa. Los efectos del TNF y de la IL-1 $\beta$  son aumentados por la producción local de IL-6 y CRH los cuales aumentan la producción de prostaglandinas. Así mismo, el TNF y la IL-1 $\beta$  amplifican la producción de metaloproteinasas y de IL-8 en el corion, decidua y cérvix para provocar ruptura de membranas y cambios cervicales. El TNF y las metaloproteinasas promueven la apoptosis en los amniocitos que llevan a la RPM. (12,13)
- La hemorragia decidual está presente en el 60% de los partos pretérmino en forma histológica, sin embargo la hemorragia evidente clínicamente sólo está en el 20% de los partos pretérmino. El riesgo de RPM es 7 veces mayor cuando existe

hemorragia transvaginal. La decidua es rica en el factor tisular que es iniciador de la cascada de coagulación. La hemorragia en la decidua expone al factor tisular al factor VIIa. El complejo factor tisular/factor VIIa activa al factor Xa para generar trombina. La trombina además de convertir el fibrinógeno en fibrina, se une a su receptor de membrana para amplificar la producción de proteasas como las metaloproteinasas y el activador tisular del plasminógeno, y también puede actuar directamente produciendo contracciones miometriales. (13,14)

- El aumento patológico del útero como sucede en embarazos múltiples y en el polihidramnios sobrepasa la capacidad de las fibras miometriales para su hipertrofia e hiperplasia. El estiramiento mecánico produce un aumento de las uniones "gap" miometriales, aumento en los receptores de oxitocina, de la sintetasa de prostaglandinas y de la cinasa de cadenas ligeras de miosina. También se asocia a un aumento en la expresión de IL-8 y de metaloproteinasas. (15)

## FACTORES DE RIESGO PARA PARTO PRETERMINO

La historia obstétrica es de gran importancia ya que se ha visto que el riesgo está relacionado con el resultado de los embarazos anteriores. Las pacientes que tuvieron un parto pretérmino en el primer embarazo tienen un riesgo de 17.2% para tener parto prematuro en su siguiente embarazo. Aquellas pacientes con 2 embarazos anteriores no fueron pretérmino tienen un riesgo de 2.6%, las pacientes con el primer embarazo pretérmino y el segundo de término tienen un riesgo de 5.7%. Las pacientes en las cuales el primer embarazo no fue pretérmino y el segundo sí lo fue tienen un riesgo de 11.1% de tener parto pretérmino en su siguiente embarazo y por último las pacientes cuyos 2 embarazos previos fueron pretérmino tienen un riesgo del 28.4%. Los factores de riesgo en mujeres que no tienen parto pretérmino recurrente son el sangrado transvaginal en el segundo trimestre, las alteraciones en el volumen del líquido amniótico, el embarazo múltiple, la farmacodependencia y los traumatismos. (16)

El parto pretérmino recurrente se ha asociado a la raza materna, a la infección genitourinaria y especialmente a la edad gestacional del primer parto pretérmino. Esta tendencia está relacionada con la longitud cervical medida por ultrasonido, como se mencionará en los marcadores biológicos de parto pretérmino.

Existe evidencia epidemiológica entre la relación que hay entre la infección y el parto pretérmino. La mayoría de las bacterias que se encuentran en el útero en pacientes con parto pretérmino, tienen un origen vaginal. Las bacterias que se han encontrado en mujeres con trabajo de parto prematuro y membranas corioamnióticas íntegras son de baja virulencia como: *Ureaplasma urealyticum*,



*Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*, *Peptostreptococci* sp., *Bacteroides* sp. Menos frecuentemente se encuentran *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas* sp., *E. coli* y el estreptococo del grupo B. Entre menor sea la edad gestacional, hay una mayor asociación entre la infección y la presencia de parto pretérmino, especialmente cuando el nacimiento ocurre antes de las 30 a 32 semanas. Se han encontrado cultivos positivos de las membranas fetales en más del 70% de los nacimientos antes de las 30 semanas en comparación con 20% a término. Se encontró que existían cultivos positivos de líquido amniótico amniótico en el 20 a 30% de las pacientes con trabajo de parto pretérmino. La frecuencia de los cultivos positivos de líquido amniótico aumentó conforme era menor la edad gestacional, y así, se encontraron cultivos positivos en el 60% de los nacimientos a las 23 a 24 semanas de gestación. (17) La presencia de vaginosis bacteriana aumenta el riesgo de parto pretérmino al doble, sobre todo cuando se presenta al principio del embarazo. Sin embargo, no se ha logrado reducir la incidencia de parto pretérmino en mujeres asintomáticas con vaginosis bacteriana, al ser tratadas con metronidazol, independientemente de los factores de riesgo, sin influir en el resultado perinatal. (18)

Como ya se había comentado hay diferencias en la incidencia de parto pretérmino según la raza materna siendo la raza afro-americana la que tiene la incidencia más alta. El riesgo que tiene ésta raza es del triple para nacimientos antes de las 32 semanas en comparación con los blancos y del doble para nacimientos antes de las 37 semanas en comparación con otras razas. Este riesgo es independiente de los factores sociodemográficos. La vaginosis bacteriana es más común en pacientes de raza negra y tiene un riesgo atribuible, en esta raza, del 40% para nacimientos que ocurrieron antes de las 32 semanas. (19) También se han sugerido polimorfismos de las citocinas en los fetos de diferentes grupos étnicos como factor de riesgo para parto pretérmino como lo es el polimorfismo fetal de la IL-1 $\beta$  en afro americanos e hispanos. (20)

Dentro de los factores de riesgo demográficos para parto pretérmino está la raza negra (RR de 3.3), la edad menor de 17 o mayor de 35 años (RR = 1.47-1.95), el bajo nivel socioeconómico (RR = 1.83-2.65) y el bajo peso pregestacional (OR = 2.72). (21)

El sangrado transvaginal durante el embarazo es un factor de riesgo para parto prematuro, aún cuando no es causado por placenta previa o desprendimiento de la placenta. Se ha encontrado una asociación muy clara entre el sangrado del segundo trimestre y el parto pretérmino, así como con la ruptura prematura de membranas. El aumento en los niveles de alfafetoproteína en el suero materno es un indicador de hemorragia feto-materna, la cual se ve en pacientes con sangrado transvaginal y se asocia al desarrollo de parto pretérmino. (22, 23)

Las malformaciones uterinas son consideradas también un factor de riesgo para el parto prematuro, ya que se presenta en el 25 a 50% de pacientes con alteraciones uterinas. Los mecanismos involucrados con el desarrollo de parto

prematureo incluyen la incompetencia ístmico-cervical y la implantación anormal de la placenta la cual puede causar hemorragia oculta o un desprendimiento prematuro de placenta.

Las contracciones uterinas espontáneas se han asociado con un riesgo mayor de tener un parto pretérmino. Según Mercer y colaboradores, la actividad uterina detectada por las pacientes se asocia a parto pretérmino antes de las 35 semanas de gestación tanto en nulíparas (RR 2.41; IC 95% 1.47-3.94) como en multíparas (RR 1.62; IC 95% 1.20-2.18). (24) También se ha encontrado este riesgo cuando las contracciones son medidas mediante un tocodinamómetro.

La asociación del embarazo múltiple con el parto pretérmino está bien establecida, lo cual está dado en parte por una sobredistensión del útero y es directamente proporcional con el número de fetos. Así la edad promedio de nacimiento en un embarazo doble es de 36.5 semanas, 33.5 semanas en un triple y de 31.5 semanas para un embarazo con cuatro fetos. La longitud cervical medida por ultrasonido es el marcador de parto pretérmino más importante para gemelos. La medida cervical de 25 mm. o menos a las 24 semanas se asocia a parto pretérmino antes de las 32 semanas (OR 6.9; IC 95%, 2.0-24.2) antes de las 35 semanas (OR 3.2; IC 95%, 1.3-7.9) y antes de las 37 semanas (OR 2.8; IC 95%, 1.1-7.7). (25) Las técnicas de reproducción asistida y la inducción de la ovulación es factor de riesgo para parto pretérmino en gran medida por la mayor incidencia de embarazo múltiple, sin embargo hay un aumento en la producción de relaxina que puede llevar a este desenlace.

Otros factores de riesgo importantes para el parto pretérmino son aquellos relacionados con el estilo de vida como el tabaquismo (OR 1.7 para más de 10 cigarrillos al día) el cual también se relaciona con una mayor incidencia de bajo peso al nacer y de desprendimiento prematuro de placenta. La actividad sexual se ha relacionado con el parto pretérmino principalmente por el aumento de la actividad uterina que hay después del coito y por el aumento en las infecciones vaginales. El trabajo físicamente demandante se ha relacionado con el parto pretérmino sin embargo los reportes recientes sugieren una asociación leve con este desenlace. (16,21)

## **MARCADORES BIOLÓGICOS DE PARTO PRETERMINO**

El impacto que tiene el parto pretérmino en los servicios de salud ha resaltado la necesidad de establecer medidas preventivas para evitar su desarrollo y ha conducido a la evaluación de diversos marcadores que permiten evaluar el riesgo para desarrollar esta complicación del embarazo. (24) Desgraciadamente, ningún marcador ha mostrado tener utilidad general y la prevalencia mundial del parto pretérmino permanece sin ser modificada desde hace 40 años. (26, 27) La única explicación a este hecho, es que aún no se conoce a fondo el mecanismo

fisiopatogénico que opera en el parto pretérmino y por lo tanto carecemos de la capacidad de intervenir en el desarrollo de la enfermedad.

Se han desarrollado numerosos marcadores biológicos para predecir el desarrollo de parto pretérmino:

### **Monitorización de la actividad uterina en casa (MAUC).**

El tocodinamómetro se ha usado desde hace tiempo en la evaluación de la actividad uterina como sucede en la monitorización intraparto, en la prueba sin estrés y en la prueba de tolerancia a la oxitocina entre otros. El registro de la actividad uterina en casa se ha propuesto como método de predicción para parto pretérmino en mujeres de alto riesgo. Se ha visto que en embarazos normales, la actividad uterina tiene un ritmo diurno y el pico de la actividad uterina ocurre durante la noche, lo cual va de acuerdo al ritmo circadiano de la liberación de la oxitocina por la neurohipófisis. Existe una variabilidad entre los diferentes individuos en la actividad uterina. Este registro consiste en una combinación de grabaciones telemétricas de contracciones uterinas con el tocodinamómetro y llamadas diarias de un profesional en salud que de asesoramiento a las pacientes. Se han publicado más de 13 ensayos clínicos aleatorizados que comprueban la efectividad de la MAUC pero varían en sus criterios de inclusión y algunos tienen limitaciones en su diseño como el tamaño de la muestra (potencia). El estudio más grande incluye a 2.422 pacientes con riesgo pero no se encontró beneficio en el resultado usando este marcador. La fuerza de servicios preventivos en E.U. realizó una revisión independiente y concluyó que la MAUC no es efectiva. (21) La sensibilidad y el valor predictivo positivo de la MAUC es muy bajo: 8.6 y 25 para las 22 a 24 semanas, 28.1 y 23.1 a las 27 a 28 semanas y 27.3 y 11.3 a las 31 a 32 semanas, respectivamente. (28)

### **Vaginosis Bacteriana.**

Es causada por una alteración en la flora vaginal normal en la que están presente lactobacilos y son reemplazados por bacterias gram-negativas anaerobias como *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides sp.*, *Prevotella sp.*, *Mobiluncus sp.* y *Mycoplasma sp.* La vaginosis bacteriana se encuentra hasta en el 10 a 25% de los pacientes de clínicas generales de ginecología y obstetricia y hasta en un 64% en clínicas para el tratamiento de enfermedades de transmisión sexual. El 50% de las mujeres con vaginosis bacteriana son asintomáticas. Como ya se ha mencionado la vaginosis bacteriana es más común en pacientes de raza afroamericana y representa un factor de riesgo importante para el parto pretérmino.

El estudio de Carey y colaboradores mostró que el tratamiento con metronidazol en comparación con placebo no disminuye la incidencia de parto pretérmino en mujeres asintomáticas con vaginosis bacteriana. (18) Otros estudios han mostrado que el tratamiento antibiótico en mujeres con historia previa de nacimientos pretérmino y vaginosis bacteriana puede disminuir la incidencia de parto pretérmino. En el metaanálisis publicado en la Cochrane Database se incluyeron 5 estudios involucrando a 1504 mujeres. Los tratamientos que se usaron en estos estudios incluyeron el uso de amoxicilina, clindamicina y metronidazol. El tratamiento era efectivo para erradicar la vaginosis bacteriana, sin embargo no se afectó la incidencia de parto pretérmino. El subgrupo de mujeres con historia de un parto pretérmino previo si tuvo diferencia significativa con un OR de 0.37 (IC 95%, 0.23-0.60), pero no se incluyó el estudio de Carey y colaboradores. (29, 18) Actualmente no existe evidencia suficiente que sugiera que el tamizaje y tratamiento de la vaginosis bacteriana en mujeres con alto o bajo riesgo de parto pretérmino tenga beneficio en el resultado perinatal.

### **Estríol en saliva.**

Como se había mencionado anteriormente, la activación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal es uno de los mecanismos fisiopatogénicos en el parto pretérmino. La producción suprarrenal de dehidroepiandrosterona lleva a una mayor producción de estrógenos placentarios. Los estudios observacionales han demostrado que el estríol materno medido en suero o en saliva aumenta antes del inicio del trabajo de parto de término o pretérmino. Los niveles de estríol materno tienen una variación diurna con un pico durante la noche. El estríol puede ser suprimido con el uso de betametasona. La concentración de estríol en saliva refleja en forma precisa la concentración sérica de estríol. En el estudio prospectivo de McGregor y colaboradores se midió la concentración de estríol en saliva en 241 pacientes semanalmente a partir de las 22 semanas de gestación. El punto final de estudio era el desarrollo de parto pretérmino antes de las 35 semanas precedido de signos de parto pretérmino sin RPM. Se encontró una especificidad de 71% y sensibilidad de 77% encontrando el punto de corte en 2.3 ng/ml, en un segundo estudio se encontró que el estríol en saliva detectaba al 61% de las pacientes con parto pretérmino en 2 semanas. En este estudio se encontró una tasa de falsos positivos del 23%. (30) Al tener una especificidad baja se necesitan más estudios al respecto de este marcador para ver su real utilidad. Al momento, el estríol salival se ha utilizado sólo por un grupo de investigadores por lo que se usa sólo en protocolos de investigación. (31)

### **Ultrasonido cervical.**

Existe una relación gradual entre la longitud del cuello uterino y el riesgo de parto pretérmino. El riesgo relativo de nacimiento antes de las 35 semanas se

calculó de 14 cuando la longitud cervical esta por debajo de la percentila 1; y de 9 si es menor de la percentila 5. El ultrasonido cervical endovaginal debe incluir la medición de la longitud cervical, la detección de la dilatación del orificio cervical interno y la forma del cérvix. Los valores de corte óptimos varían entre los diferentes estudios entre 25 a 35 mm en mujeres asintomáticas que se encuentran entre las semanas 20 a 24 de gestación. Con estos valores de corte la sensibilidad que se encontró en los diferentes estudios variaba del 33% al 54% y la especificidad del 73 al 91%. (32) La longitud menor de 25 mm a las 22 a 24 semanas fue la medida que mejor se correlacionaba con parto pretérmino, sin embargo tenía una sensibilidad de 47% y un valor predictivo positivo de 37%. (33) En un ensayo prospectivo que incluía más de 2,900 mujeres evaluadas a las 24 y 28 semanas se encontró que a las 28 semanas una longitud cervical de 40 mm o menor tenía un RR de 2.8 para parto pretérmino; a los 35 mm o menos el RR era de 3.52; a los 30 mm o menos el RR era de 5.39; a los 26 mm o menos el RR era de 9.57; a los 22 mm o menos el RR era de 13.88 y a los 13 mm o menos el RR era de 24.94. (33) El uso del ultrasonido también se ha usado en conjunto con la fibronectina oncofetal como se explicará a continuación.

### **Otros marcadores.**

Ha propuesto múltiples marcadores para predecir el riesgo de parto pretérmino enfocados a los diferentes mecanismos fisiopatogénicos que operan en esta entidad clínica.

Dentro de los marcadores de la activación del eje HHS se encuentra la CRH la cual se eleva en el segundo trimestre 6 semanas antes en aquellas pacientes que tienen partos pretérmino en comparación de aquellas con partos de término. No se ha visto que sea útil en mujeres de bajo riesgo. El valor de corte se estableció en 1.9 MoM con una sensibilidad de 73%, especificidad de 78%, valor predictivo negativo (VPN) mayor del 99% y valor predictivo positivo (VPP) de sólo 3.6%. Este marcador sólo identificaría aquellas pacientes que tengan como mecanismo la activación del eje HHS. Otros marcadores que se han relacionado con el estrés fetal son los que evalúan las anomalías uteroplacentarias como son los marcadores de retardo en el crecimiento intrauterino, la alfafetoproteína y el estudio Doppler de la arteria umbilical fetal. La elevación de la gonadotropina coriónica humana en concentraciones mayores de 4 MoM confiere un riesgo 3.3 veces mayor para el desarrollo de parto pretérmino. La sensibilidad y los valores predictivos negativos de estas pruebas los hacen ineficaces para su uso clínico. (13)

En cuanto a los marcadores indicativos de infección genital está la interleucina (IL)-6 la cual se eleva hasta 4 veces más en pacientes con parto pretérmino. El punto de corte se estableció con una curva ROC en 250 pg/ml o más entre las 24 y 36 semanas de gestación. En ese estudio se observó una sensibilidad de 50%, una especificidad de 85%, un VPP de 47% y un VPN de

86%. (34) El factor estimulador de colonias de granulocitos también se ha investigado como marcador de parto pretérmino.

En cuanto a los marcadores de hemorragia decidual subclínica se encuentran los marcadores de la activación de la trombina como el complejo plasmático trombina-antitrombina III el cual tiene un OR de 6.0 (95% IC, 1.67-21.1) para parto pretérmino debido a RPM. También este complejo puede predecir parto pretérmino debido a un trabajo de parto pretérmino con un nivel de corte en 6.3 ng/ml tiene una sensibilidad de 75%, una especificidad de 73%, un VPP de 67% y un VPN de 73% para el nacimiento antes de 3 semanas en pacientes con una edad gestacional entre 24 y 33 semanas. (35)

### **Fibronectina oncofetal.**

Existen 4 mecanismos principales en la patogenia del parto pretérmino como se comentó anteriormente, pero todos ellos comparten una vía final en la que se incluyen una serie de proteasas y prostaglandinas. La fibronectina oncofetal es un marcador de la vía final común del parto pretérmino.

Las fibronectinas son glicoproteínas de 450 kd que se encuentran en el plasma y en la matriz extracelular. Una de éstas fibronectinas que se encuentra en el líquido amniótico, en el tejido placentario y en algunas células malignas, contiene un epítipo llamado el dominio oncofetal y se reconoce con el anticuerpo monoclonal FDC-6. Este epítipo se forma cuando se agrega  $\alpha$ -N-acetilgalactosamina a un residuo de treonina en el segmento de hexapéptidos (Val-Thr-His-Pro-Gly-Tyr) que está localizado en la región variable III<sub>CS</sub> de la fibronectina. La fibronectina promueve la unión de las membranas a la decidua y cuando hay un aumento en la actividad proteolítica en la interfase coriodecidual (como sucede en el trabajo de parto pretérmino o en la RPM) se libera esta glicoproteína a las secreciones cervicovaginales. (36)

La fibronectina oncofetal es uno de los principales componentes de la matriz extracelular de la unión coriodecidual. Normalmente se encuentra en concentraciones altas antes de la semana 20 del embarazo, lo cual se cree es debido a una fusión incompleta entre las membranas fetales y la decidua. En un embarazo normal, las concentraciones de fibronectina permanecen muy bajas después de las 20 semanas y sólo son detectadas en el 4% de las mujeres, hasta poco tiempo antes de que el embarazo llega a término cuando empieza a aumentar la concentración de fibronectina debido a la remodelación del estroma cervical que precede al parto. Los niveles de fibronectina pueden aumentarse por alteraciones patológicas a nivel de la unión coriodecidual como las infecciones o la respuesta inflamatoria, que también están involucradas en el desarrollo del parto pretérmino. De hecho, se ha encontrado asociación entre la prueba positiva de fibronectina en secreciones cervicovaginales y el desarrollo de corioamnioitis o

sepsis neonatal. Estas propiedades en cuanto a su fisiopatología lo harían un excelente marcador para la detección de pacientes con mayor riesgo para parto pretérmino.

La recolección de la muestra es muy importante, se recomienda tomar la muestra durante la revisión inicial con espejo vaginal, usando un hisopo se toma la muestra de fondo de saco posterior o de ectocérvix y se transporta en un medio con amortiguador o buffer. Para evitar resultados falsos positivos, la recolección del espécimen debe de hacerse antes del tacto vaginal que puede llevar a tener un 15% de falsos positivos. (37) También se ha visto que el líquido seminal contiene fibronectina fetal con niveles que varían entre 2 a 103 µg/ml y se ha visto en los estudios que en mujeres sin embarazo el haber tenido relaciones sexuales de 12 a 48 horas antes de la toma de la muestra hace que el estudio de la fibronectina sea positivo. Después de las 72 horas del coito todas las muestras fueron negativas. (38) Por ello, es importante tomar la muestra sin haber tenido relaciones sexuales.

El sangrado transvaginal también puede dar un falso positivo por la presencia de fibronectina en el plasma. El líquido amniótico contiene fibronectina y su presencia en las secreciones cervicovaginales puede dar un resultado falso positivo. El uso de lubricantes vaginales o desinfectantes puede dar resultados falsos negativos. En modelos de regresión logística se ha visto que una puntuación de Bishop mayor de 6, una concentración baja de polimorfonucleares en vagina, la presencia de *Enterococcus faecalis*, *Prevotella sp.*, o de vaginosis bacteriana se asocian a niveles altos de fibronectina en secreciones cervicovaginales. (39)

#### *Fibronectina en mujeres asintomáticas.*

Se han reportado más de 20 estudios que evalúan a la fibronectina en mujeres asintomáticas desde el estudio original de Lockwood y colaboradores. El valor potencial de ésta prueba en mujeres asintomáticas es el de identificar a aquellas que tienen el mayor riesgo para tener un parto pretérmino subsecuente. Goepfert y colaboradores notaron que el riesgo para desarrollar parto pretérmino aumentaba conforme aumentaban los niveles de fibronectina y al realizar la curva ROC (Receiver-operator curve) el punto de corte ideal para predecir parto pretérmino antes de las 35 semanas estaba entre 45 y 60 ng/ml y desde entonces se usa el punto de corte actual de 50 ng/ml. (40)

El estudio de Goldenberg y colaboradores demostró la eficacia de la fibronectina en la evaluación de pacientes asintomáticas en un estudio grande, multicéntrico, prospectivo, de una cohorte de 3076 mujeres asintomáticas. Estas pacientes fueron estudiadas para más de 50 factores de riesgo potenciales dentro de los cuales estaba la fibronectina. Estos investigadores demostraron que un nivel alto de fibronectina oncofetal (> 50 ng/ml) a las 24 semanas de gestación en mujeres asintomáticas tiene una fuerte asociación con el desarrollo de parto

pretérmino con un OR de 59.2 (IC 95%, 35.9 - 97.8) para el nacimiento antes de las 28 semanas de embarazo; OR 39.9 (IC 95%, 25.6 - 62.1) para el nacimiento antes de las 30 semanas y un OR de 21.2 (IC 95%, 14.3 - 62.1) para el nacimiento antes de las 32 semanas. Para la predicción de parto pretérmino antes de las 28 semanas se encontró una sensibilidad de 63.2%, una especificidad de 97.8%, un VPP de 14.7% y un VPN de 99.7% (41)

En un metaanálisis del uso de la fibronectina en mujeres asintomáticas se encontró que la sensibilidad para el nacimiento antes de las 37 semanas era variable en los diferentes estudios desde 18% a 93%, el VPP de 15% a 64%, ambos bajos. Sin embargo la especificidad era de 52 a 97% y el VPN 79 a 97%, con un valor más favorable. (42)

#### *Fibronectina en mujeres sintomáticas.*

Se han reportado más de 30 estudios que evalúan el uso de fibronectina fetal en pacientes que presentan síntomas de parto pretérmino. La utilidad de esta prueba es la de distinguir aquellas mujeres con verdadero riesgo para tener un parto pretérmino de aquellas mujeres con falso trabajo de parto y que no están destinadas a tener un parto pretérmino.

En un metaanálisis de 27 estudios en el que se midieron las concentraciones de fibronectina oncofetal en secreciones cervicovaginales en pacientes con síntomas de parto pretérmino se encontró una sensibilidad de 89%, 78% y 76% para el nacimiento antes de 7, 14 y 21 días, respectivamente; y la especificidad fue de 86%, 86% y 88%, respectivamente. Este ensayo fue superior que la dilatación mayor de 1 cm. y la presencia de 8 o más contracciones en una hora para predecir parto pretérmino. (43)

La principal utilidad de las determinaciones de fibronectina en mujeres sintomáticas es su alto VPN. Peaceman y colaboradores demostraron que el 99.2% de pacientes con signos y síntomas de parto pretérmino pero que tuvieron negativa la prueba de fibronectina oncofetal no tuvieron el parto dentro de los 14 días después de la realización del estudio. (44)

En el metaanálisis de Honest y colaboradores de estudios en mujeres sintomáticas, la prueba de fibronectina tuvo una sensibilidad de 67% a 83% para el nacimiento dentro de 7 a 14 días de realización del estudio, un VPP de 9% a 41%. Para parto antes de las 37 semanas una sensibilidad de 23% a 82% y VPP 45% a 83%. La especificidad y el VPN eran favorables: especificidad para parto dentro de 7 a 14 días de 79% a 92%, VPN de 96 a 99%; para parto antes de las 37 semanas especificidad de 81% a 96% y VPN de 76 a 92%. (42)

Por lo tanto, un resultado negativo en el estudio puede usarse clínicamente para evitar el uso de intervenciones caras o que tengan efectos adversos como es el uso de esteroides y de tocolítics. El valor predictivo positivo en este estudio fue de 65% para parto pretérmino antes de las 37 semanas lo cual es útil también en



el manejo de estas pacientes. El uso de fibronectina oncofetal para pacientes con sospecha de parto pretérmino ha ayudado a reducir los costos en su manejo en un 50%. (45) Se han propuesto algoritmos de manejo en pacientes con síntomas de parto pretérmino y se han realizado estudios para ver el costo-beneficio de su uso y en uno de ellos se encontró que la fibronectina y la medición de la longitud cervical para el tratamiento dirigido en pacientes con mayor riesgo tiene el mayor beneficio en costo y previene los casos de síndrome de distrés respiratorio neonatal y reduce la mortalidad neonatal, en comparación con la estrategia de tratar a todas las pacientes con síntomas de parto pretérmino. (46)

#### *Uso de fibronectina oncofetal y ultrasonografía.*

Se ha estudiado la combinación de marcadores para predecir parto pretérmino. Dentro de ellos el uso de fibronectina oncofetal combinado con la medición cervical por ultrasonografía es el que tiene mayor utilidad para identificar a pacientes en riesgo para desarrollar parto pretérmino. En un estudio, las mujeres con un resultado positivo de fibronectina combinado con un cérvix corto (menos de 25 mm) a las 30 semanas de gestación les confiere un riesgo del 33.3% para desarrollar parto pretérmino, mientras que cada marcador positivo por separado confiere un riesgo de 6.2% y si ambos eran negativos el riesgo era de 1.3%. (47)

El mismo grupo también estudió el riesgo de recurrencia de parto pretérmino en mujeres con un parto pretérmino previo a quienes se les realizó la medición de longitud cervical por ultrasonido y la medición de fibronectina antes de las 35 semanas de gestación. En mujeres en las que la longitud cervical era de 25 mm, cuando la fibronectina era positiva el riesgo de recurrencia era de 65% y aquellas con fibronectina negativa el riesgo era de 25%. En aquellas mujeres con longitud cervical entre 26 y 35 mm, cuando la fibronectina era positiva el riesgo fue de 45% y cuando era negativa de 14%. En las mujeres con longitud mayor de 35 mm, cuando la fibronectina era positiva el riesgo fue de 25% y cuando fue negativa del 7%. (48)

#### **Metaloproteinasa 9 (MMP-9).**

Las metaloproteinasas (MMP) tienen un papel muy importante en el desarrollo del parto pretérmino, tanto en la remodelación cervical como en la ruptura prematura de membranas (RPM).

Las membranas fetales incluyen al amnios y al corion y envuelven al feto y al líquido amniótico. Su fuerza tensil está dada por el amnios principalmente, el cual es rico en colágena (tipo I, III, IV, V y VI) y otras proteínas como laminina y fibronectina. Las membranas fetales se rompen durante el trabajo de parto como consecuencia del estiramiento en las mismas provocado por las contracciones uterinas y por una serie de enzimas proteolíticas que debilitan la fuerza tensil de las membranas. Las membranas pueden romperse prematuramente antes de que

se inicie el trabajo de parto en embarazos de término o pretérmino. En ambas situaciones se ha visto que hay un aumento en la degradación de colágena por unas colagenasas extracelulares llamadas metaloproteinasas, las cuales son dependientes de zinc, y llevan a la RPM. (49)

El cérvix está compuesto de tejido conectivo que contiene células (principalmente fibroblastos) y matriz extracelular la cual está compuesta por colágena tipo I y III, así como proteínas como la elastina y fibronectina, agua y proteoglicanos. La consistencia del cérvix está determinada por las uniones covalentes de los proteoglicanos con cadenas de glucosaminoglicanos como el dermatan sulfato, heparan sulfato, condroitin sulfato, ácido hialurónico y agregan. Estos compuestos tienen carga negativa y se unen a muchas moléculas de agua que favorece la reorientación de las fibras de colágena. Inmediatamente antes y durante el trabajo de parto ocurren cambios estructurales en el cérvix que son consecuencia del aumento en la concentración de agua y ácido hialurónico y la disminución en la cantidad de colágena. El borraramiento ocurre gracias a la activación de metaloproteinasas, en particular la metaloproteinasa (MMP) -9 y otras enzimas proteolíticas que disocian y digieren a las fibras de colágena. Estos cambios están asociados a la invasión local de leucocitos como los neutrófilos y a la activación de la apoptosis. (50)

Las metaloproteinasas son una familia de por lo menos 23 proteasas diferentes, que tienen secuencias similares a la colagenasa intersticial humana, también conocida como MMP-1. Las MMP son secretadas en una forma inactiva y son inhibidas por un grupo específico de inhibidores llamados TIMP. El papel específico de todas las MMP en la degradación de la matriz extracelular del amnios y corion no ha sido descrito a fondo pero se sabe que se expresan gelatinasas, colagenasas y la estromelisina. La gelatinasa A de 72 kd (MMP-2) y la gelatinasa B de 92 kd (MMP-9) son capaces de digerir a la colágena tipo IV, la cual es el componente fundamental de la membrana basal y son sintetizadas en las células corioamnióticas. La colágena tipo IV se encuentra en las capas de las membranas fetales y forma una red tridimensional con los proteoglicanos lo cual ayuda a la estabilización de la colágena tipo I. La degradación de la colágena tipo IV por las MMP lleva a la RPM. Otras enzimas que intervienen en la degradación de la matriz extracelular en la interfase corioamniótica son la colagenasa 2 (MMP-8), la colagenasa 3 (MMP-13) y la estromelisina-1 (MMP-3).

La MMP-2 se expresa en el amnios humano durante la gestación y su actividad se aumenta durante el trabajo de parto. La MMP-9 es expresada selectivamente en el amnios, células del trofoblasto y de la decidua al final del embarazo y es la MMP que más se expresa durante el trabajo de parto. El momento de la expresión selectiva de la MMP-9 la hace un candidato potencial como marcador del inicio del trabajo de parto. La MMP-13 se secreta en el trabajo de parto por el amnios y la MMP-8 es secretada por polimorfonucleares infiltrantes. Recientemente se ha visto que la MMP-8 también es producida en las células del corion y que degrada la colágena tipo I. (51) Poblaciones específicas de linfocitos T (CD3+) que expresan MMP-9 son atraídos a la interfase

coriodesidual e interactúan con otras células para colaborar en la degradación de la matriz extracelular. Se ha visto que hay ciertas citocinas que regulan la expresión de las MMP en las membranas fetales. En los humanos la secreción de ciertas MMP ocurre de 5 a 6 días antes del inicio del trabajo de parto pero lo hacen en forma inactiva. La IL-1 $\beta$  y el TNF- $\alpha$  estimulan la secreción de la proenzima de MMP-9. La IL-1 $\beta$  es secretada por las células del corion y es la citocina clave para inducir la expresión y actividad de MMP-9 en estos tejidos. (52)

El mecanismo por el cual se produce el nacimiento pretérmino ya sea por RPM o por un trabajo de parto pretérmino varía entre los diferentes individuos en su forma de responder a un agente infeccioso. Se ha visto en diferentes estudios que existen polimorfismos de las citocinas proinflamatorias principales: la IL-1 $\beta$  y el TNF- $\alpha$  lo cual explica en parte porque en algunos casos se establece la RPM y en otros inicia el trabajo de parto sin RPM. El polimorfismo de la IL-1 $\beta$  tiene 2 tipos; el tipo 1 está relacionado con una mayor respuesta en el amnios y corion que lleva a la degradación del mismo y a la RPM, el tipo 2 expresado en el feto es derivado de un alelo paterno y lleva a la activación del miometrio lo cual conduce al trabajo de parto pretérmino. (53) En cuanto al TNF- $\alpha$ , se ha visto que es capaz de estimular la liberación de la MMP-9 activa de las membranas fetales, sobre todo cuando se une al receptor TNFR1, el cual está involucrado también en la apoptosis. El receptor TNFR2 no produce apoptosis pero es importante en la inflamación favoreciendo la producción de prostaglandinas, las cuales son muy importantes en el parto pretérmino. (54)

La MMP-9 aumenta su actividad en las membranas fetales al momento del trabajo de parto ya sea de término o pretérmino. (55, 56) Se ha visto que aumenta su concentración en modelos experimentales animales al inyectar en la decidua IL-1 $\beta$  o bacterias como el estreptococo del grupo B. La forma activa de la MMP-9 de 83 kd apareció 48 horas antes del parto en este estudio. A su vez, el inhibidor específico de la MMP-9, el TIMP-1 disminuye su concentración durante el trabajo de parto, lo cual favorece la proteólisis. (57)

Las MMP también pueden ser activadas por mecanismos endócrinos, se ha visto que la relaxina aumenta la producción de MMP-9 mientras los glucocorticoides disminuyen su producción. La progesterona estimula la producción del TIMP-1 y la supresión de la misma lleva a una elevación en la MMP-9. (58)

Se ha visto que la MMP-9 en su forma activa está en altas concentraciones en el líquido amniótico de mujeres con RPM (59). Esto puede ser explicado por la producción de MMP-9 en las membranas fetales, de hecho se ha visto que la concentración de MMP-9 aumenta considerablemente en las membranas fetales y en el tejido placentario en pacientes con trabajo de parto de término o pretérmino en comparación con aquellas que no tienen trabajo de parto. La MMP-9 se localiza principalmente en el epitelio amniótico, el trofoblasto del corion leve, la decidua parietal y el sincitiotrofoblasto placentario. La MMP-2 se localiza en el

mesénquima del amnios, el trofoblasto del corion leve, la decidua parietal y los vasos sanguíneos de las vellosidades placentarias y se considera constitutiva ya que sus niveles permanecen relativamente constantes durante el embarazo y trabajo de parto. Por otro lado, la MMP-9 se considera inducible (por hormonas, prostaglandinas y citocinas) y puede usarse como un marcador de parto pretérmino como se ha visto en estudios en tejido placentario y membranas (56) y en modelos de infección intra-amniótica en monos rhesus. (57) Los primeros ensayos clínicos han demostrado la utilidad de la MMP-9 como marcador de RPM y parto pretérmino. (60, 61, 62, 63) En un estudio realizado por Tu y colaboradores se encontró que la MMP-9 medida en suero se elevaba 24 horas antes del inicio de trabajo de parto o de la RPM pretérmino. El hecho de que se elevara tan poco tiempo antes no la haría un buen marcador ya que no habría tiempo para realizar alguna intervención. (64) Está claro que la MMP-9 juega un papel importante en el desarrollo del parto pretérmino, al elevarse antes de presentarse éste y que puede usarse como marcador biológico de parto pretérmino. Aún queda por determinar el valor de éste marcador como predictor de parto pretérmino y la comparación con otros marcadores que ya han sido estudiados.

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El estudio de la fisiopatogenia del parto pretérmino es una de las líneas de investigación que se han desarrollado en el Instituto Nacional de Perinatología y ha permitido iniciar el entendimiento de los mecanismos moleculares y celulares que conducen al desarrollo de la ruptura prematura de las membranas corioamnióticas (RPM), que es la causa identificada más común de parto pretérmino y que explica al menos la mitad de los casos. La RPM es una entidad nosológica que se caracteriza por la ruptura espontánea de las membranas que rodean al feto, con salida de líquido amniótico transvaginal y que es seguida por el desarrollo de trabajo de parto. El origen de la RPM tampoco se conoce. Dentro de las aportaciones más relevantes de ésta línea de trabajo se destaca la identificación del papel que desempeña un sistema enzimático de metaloproteinasas que median el daño a las membranas corioamnióticas. (55, 65) Este grupo de enzimas degrada de manera selectiva a los diferentes componentes de la matriz extracelular, que es el componente que le da soporte mecánico a las membranas fetales. Una de estas enzimas, denominada metaloproteinasa-9 ó MMP-9 se sintetiza de modo exclusivo cuando se inicia la ruptura normal o anormal de las membranas y con ello, además de su rol biológico, se ha constituido en un marcador específico del evento de pérdida de continuidad del corioamnios. (66) Esto ha llevado a varios grupos en el mundo a probar su utilidad clínica como marcador de ruptura prematura ó parto pretérmino y los primeros ensayos clínicos han mostrado su utilidad en grupos pequeños de pacientes. (60, 61, 62, 63) En un ensayo clínico desarrollado en el INPer con 65 mujeres embarazadas, se encontró que la determinación de MMP-9 como herramienta de predicción del desarrollo de RPM, tienen sensibilidad de 1.0 y especificidad de 0.95, ambas superiores a los datos de predicción basados en la determinación de fibronectina oncofetal, que es el marcador bioquímico pronóstico que más se usa en la actualidad. Algo que es importante de mencionar es que la MMP-9, además de su valor como marcador de predicción, constituye un eje molecular que puede ser potencialmente interferido, dado su papel de mediador de daño en las membranas fetales que se afectan por RPM. (67)

A lo largo de los años se han propuesto diferentes marcadores bioquímicos ó biofísicos que permiten distinguir a las mujeres embarazadas con mayor riesgo para desarrollar parto pretérmino. Dentro de estos marcadores ha destacado la propuesta de utilizar la determinación de fibronectina oncofetal (fnOnc) en secreciones vaginales como un indicador del riesgo relativo para desarrollar esa complicación del embarazo y aunque su uso no se ha generalizado, ya se cuenta con varios reportes en los que se demuestra su posible utilidad clínica.(41, 68) La fnOnc es una molécula de matriz extracelular con propiedades adhesivas que es sintetizada por células fetales y cuya principal función es mediar el anclaje de diferentes estirpes celulares de la placenta y de las membranas fetales a su entorno de tejido conectivo en la interfase coriodecidual. Bajo condiciones de embarazo normal, la fnOnc es detectable en el exudado cervicovaginal antes de la semana 20 de embarazo y permanece negativa hasta algunas horas antes del

desarrollo del trabajo de parto. Se ha propuesto que los fenómenos que se asocian al trabajo de parto normal ó pretérmino y/ó a la ruptura prematura de membranas, provocan cambios en el microambiente intrauterino que modifican la arquitectura local y que se manifiestan por pérdida de las relaciones de ésta proteína, provocando su liberación y paso a las secreciones del exudado cervicovaginal. La identificación de esta proteína se realiza actualmente con dos métodos inmunológicos comerciales, uno por ELISA que es cuantitativo y otro cualitativo utilizando una tira reactiva ó "dipstick". El ELISA es un método que requiere equipo especial y su costo en México es de aproximadamente \$42.00 USD por muestra. La tira reactiva para fnOnc se ha propuesto como una opción para uso en el consultorio y sin necesidad de equipo especializado sin embargo su uso no se ha popularizado pues carece de sensibilidad y especificidad, dados los requerimientos muy especiales para su lectura e interpretación.

La amenaza de parto pretérmino constituye un problema clínico en el que se debe actuar de manera agresiva para impedir el desarrollo del parto pretérmino. Las medidas más utilizadas, son diferentes combinaciones de terapias tocolíticas. Un problema no resuelto, es poder distinguir a las pacientes que evolucionarán hacia el parto pretérmino y que por lo tanto, a su ingreso, ya tienen características que podrían ser identificadas para su manejo. El uso de diferentes marcadores que indiquen la activación de los mecanismos del parto pretérmino, que incluyen a los marcadores ya mencionados arriba, podría ser una herramienta útil en la clínica y que permitiría un manejo más acertado de este grupo de pacientes.

### III. JUSTIFICACION

El parto pretérmino es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad neonatal en México y en otros países. Esto genera el consumo de innumerables recursos de la salud para la atención de éstos recién nacidos prematuros con un costo muy elevado. El avance en los cuidados neonatales ha permitido la sobrevivencia de neonatos de cada vez menor edad gestacional, sin embargo la mortalidad de ellos sigue siendo elevada al igual que la morbilidad y las discapacidades a corto y largo plazo. Uno de los principales problemas a los que enfrentan estos recién nacidos es la inmadurez pulmonar que se caracteriza clínicamente por el síndrome de dificultad respiratoria.

La prevalencia del parto pretérmino es alta y no ha podido modificarse. Se han hecho muchos estudios para conocer la fisiopatología del parto pretérmino sin embargo, aún no se conocen a fondo todos los mecanismos que están involucrados en el inicio y desarrollo del parto pretérmino.

La utilidad del desarrollo de un marcador de parto pretérmino radica en varios motivos. Primero, que podamos entender mejor la fisiopatología del parto pretérmino. Segundo, que conozcamos que pacientes están en riesgo de padecerlo. Tercero, que se puedan hacer las intervenciones necesarias para disminuir la morbilidad y mortalidad neonatal. Y por último, que se realicen estudios para realizar algún tipo de tratamiento específico que impida el desarrollo del parto pretérmino.

Hasta el momento, el marcador que mejores resultados ha tenido es la fibronectina oncofetal, la cual tiene un alto valor predictivo negativo y de ahí su utilidad, ya que evita el uso de tratamientos innecesarios como los tocolíticos y los corticoesteroides en pacientes que probablemente no desarrollarán parto pretérmino. Por otro lado esta propiedad hace que disminuyan las admisiones hospitalarias y los costos y que el médico pueda estar tranquilo de que la paciente no desarrollará parto pretérmino. Aunque el resultado negativo de la prueba tiene utilidad, el resultado positivo tiene limitaciones clínicas primero por su baja sensibilidad y después por que hasta el momento no hay ninguna intervención obstétrica dirigida a disminuir el riesgo o evitar el desarrollo del parto pretérmino. Las intervenciones obstétricas están dirigidas a disminuir la morbilidad y mortalidad neonatal como es el uso de uteroinhibidores para permitir que tenga efecto el esquema de madurez pulmonar. Están bajo investigación diferentes tratamientos dirigidos a las bases fisiopatológicas del parto pretérmino lo cual resaltarán la utilidad de los marcadores de parto pretérmino.

El desarrollo de nuevos marcadores que tengan mejores sensibilidades, especificidades, VPP y VPN, a un menor costo, nos permitirá definir mejor a las pacientes con riesgo o no de desarrollar parto pretérmino.

## **IV. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la utilidad de la determinación de MMP-9 y fibronectina oncofetal en exudado cervicovaginal de pacientes con amenaza de parto pretérmino como marcadores pronósticos del desarrollo de parto pretérmino verdadero.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Evaluar la utilidad de la determinación de MMP-9 para identificar el riesgo para evolucionar al parto pretérmino en una muestra de exudados cervicovaginales de mujeres embarazadas que acuden al INPer con amenaza de parto pretérmino.
2. Evaluar y comparar la determinación de fibronectina oncofetal en la misma muestra de mujeres embarazadas.



## V. DISEÑO DEL ESTUDIO

### ***Diseño***

Estudio de cohorte

### ***Tipo de Investigación***

Observacional

### **Características del estudio**

*En relación al método de observación*

Longitudinal

*En relación al tipo de análisis*

Analítico

*En relación a temporalidad*

Prospectivo

## VI. MATERIAL Y METODOS

### Algoritmo

#### Pacientes

Se integró una cohorte de mujeres embarazadas que acudieron al Servicio de Urgencias del Instituto Nacional de Perinatología con diagnóstico de amenaza de parto pretérmino y que reunieron las siguientes características:

#### Criterios de Inclusión

1. Que al momento de su ingreso no tuvieran más de 36 semanas de gestación
2. Que al ser evaluadas presentaran:
  - a. Contracciones uterinas en número de 6 o más en una hora (documentado con monitor).
  - b. Modificaciones cervicales (borramiento o inicio de dilatación en el orificio interno).
3. Que aceptaron participar en el estudio mediante una carta de consentimiento (anexo 2)

#### Criterios de Exclusión

1. Que tuvieron complicaciones médicas u obstétricas del embarazo tales como placenta previa, malformaciones fetales mayores, incompetencia ístmico-cervical, polihidramnios, preeclampsia, eclampsia, ruptura prematura de membranas, epilepsia, malformaciones uterinas corioamnioitis o sepsis.
2. Que resolvieron su embarazo en una institución diferente al INPer.

**Tamaño de la muestra:** El tamaño de la población que se esperaba en 18 meses era de 300 casos con APP. Considerando la representatividad de la muestra, era necesario el seguimiento de 50 pacientes, incluyendo 20% por pérdidas.

## **Criterios de Exclusión**

1. Que tuvieron complicaciones médicas u obstétricas del embarazo tales como placenta previa, malformaciones fetales mayores, incompetencia ístmico-cervical, polihidramnios, preeclampsia, eclampsia, ruptura prematura de membranas, epilepsia, malformaciones uterinas corioamnioitis o sepsis.
2. Que resolvieron su embarazo en una institución diferente al INPer.

**Tamaño de la muestra:** El tamaño de la población que se esperaba en 18 meses era de 300 casos con APP. Considerando la representatividad de la muestra, era necesario el seguimiento de 50 pacientes, incluyendo 20% por pérdidas.

## VII. RECOLECCION DE DATOS

**Reclutamiento de pacientes.** Las pacientes que participaron en el estudio se reclutaron a su ingreso a Urgencias. En éste momento se les describió el proyecto y se les invitó a participar en él.

A su ingreso al estudio se les 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 Cuantificación de fnOnc por ELISA
    - 2.1.2 Cuantificación de MMP-9 por ELISA
  - 2.2 Biometría hemática completa

Se integró una base de datos electrónica que incluyó la información que se describe en el anexo 2.

Todas las pacientes fueron seguidas después de su ingreso e inclusión en el estudio hasta el momento en que ocurrió el nacimiento del producto y se documentó la edad gestacional en que ocurrió.

**ELISA para MMP-9.** Se desarrolló un ELISA tipo “sándwich” en el que se utilizó una inmunoglobulina monoclonal antiMMP-9 comercial como anticuerpo de captura, un anticuerpo de detección policlonal biotinilado antiMMP-9; el complejo ternario fue revelado con avidina-fosfatasa alcalina. La concentración del complejo cuaternario fue cuantificado por desarrollo de color con p-nitrofenilfosfato. Para desarrollar la curva estándar se utilizó MMP-9 humana recombinante. El protocolo específico que se siguió se describe con detalle en el Anexo 1.

El ELISA fue calibrado y se definieron todos los requerimientos del sistema, así como su control de calidad. Lo anterior incluyó la determinación de la sensibilidad, rango de detección, punto de señal óptimo, reproducibilidad y especificidad para reconocer la forma activa y latente de la enzima.

**Estándar de oro.** El valor pronóstico de las pruebas que fueron utilizadas, fue calculado con base en el desarrollo de parto pretérmino y su diagnóstico constituyó la variable de desenlace final. Por otro lado, se utilizó la determinación de fibronectina oncofetal en secreciones cervicovaginales como un segundo estándar de oro para pronóstico de desarrollo de parto pretérmino, dado que es la prueba que mejores resultados ha mostrado como criterio de pronóstico de estas

complicaciones obstétricas. Esta prueba se considera positiva cuando en la muestra de secreción cervicovaginal la cantidad de fibronectina oncofetal es superior a 50 µg/mL utilizando el dipstick que comercializa la compañía Adeza Biomedical (Palo Alto, CA, USA) y que fue el que se utilizó en este estudio. La persona que realizó los ELISA permaneció cegada a la clasificación de las pacientes y reportó los resultados a una persona diferente a los médicos clínicos que estuvieron en seguimiento de las pacientes, que fue responsable de guardar el código de resultados y expedientes clínicos.

**Toma de muestras.** La toma de muestra de exudado cervicovaginal, se realizó como la primera maniobra que acompañó a la primera exploración que se hizo en las pacientes. Las muestras se tomaron durante la exploración ginecológica, una vez insertado el espejo vaginal y antes de realizar las maniobras habituales. Se utilizaron hisopos de Dacron estériles para toma de muestras del fondo de saco. La punta del hisopo se transfirió a un tubo con un sistema amortiguador adicionado con un coctel de inhibidores de proteasas para su transporte al laboratorio.

## **Variables del estudio**

### *Variables Independientes*

- Parto pretérmino

### *Variables dependientes*

- Presencia de fibronectina oncofetal en exudado cervicovaginal
- Presencia de metaloproteinasa de matriz extracelular-9 (MMP-9) en exudado cervicovaginal.

### **Definición de Variables:**

- Se consideró parto pretérmino, cuando se desarrolló parto espontáneo en embarazos con edad gestacional menor de 37 semanas.
- La concentración de fibronectina oncofetal se determinó con la prueba rápida de la compañía Adeza, que tiene punto de corte en 50 µg/mL para definir muestras positivas.
- La concentración de metaloproteinasa-9 en su forma activa se realizó mediante un ELISA específico. El punto de corte para positividad de la muestra es de 10 ng/mL conforme al análisis realizado en este mismo estudio.

El valor pronóstico de las pruebas que se utilizaron, fue calculado con base en el desarrollo de parto pretérmino y su diagnóstico clínico constituye la variable de desenlace final y el estándar de oro. La persona que realizó las pruebas rápidas de fOnc y los ELISA para MMP-9 permaneció cegada a la clasificación de las pacientes y reportó los resultados a una persona diferente a los médicos clínicos que estuvieron dando seguimiento a las pacientes, y que fue responsable de guardar el código de resultados y expedientes clínicos, así como del análisis estadístico.

### **Recursos Humanos**

El encargado de tomar las muestras fue el mismo investigador

### **Capacitación de personal**

No es necesaria la capacitación de personal ya que las muestras fueron tomadas por el investigador el cual es residente del Instituto Nacional de Perinatología

### **Financiamiento**

Todo el financiamiento del protocolo de investigación es interno.

## **VIII CONSIDERACIONES ETICAS**

Dado que existen antecedentes en la literatura que permiten aceptar la determinación de fibronectina oncofetal como un marcador pronóstico de parto pretérmino, cuando se encuentre una determinación positiva de la prueba, se informará al médico tratante de esa eventualidad para que lo considere en el manejo de la paciente. En el caso de la MMP-9, aún no se contaban con criterios suficientes para tomar una decisión clínica.

## **IX ANALISIS ESTADISTICO.**

Los resultados de la población estudiada fueron analizados con estadística descriptiva. Los resultados de las pruebas de MMP-9 y de fnOnc fueron analizados de dos maneras, en un primer enfoque se tomó el punto de corte definido para clasificar a cada prueba como positiva o negativa y se correlacionó con el desenlace del embarazo. Se construyeron tablas de contingencia para analizar la sensibilidad y especificidad de cada prueba para distinguir a las mujeres que desarrollaron parto pretérmino. También se calcularon valores predictivos positivos y negativos, así como riesgo relativo y coeficientes de confianza al 95%. En un segundo enfoque, se elaboraron curvas ROC para definir el punto de corte que resultara útil para ambas pruebas en nuestra población.



## X. RESULTADOS

Fueron estudiadas un total de 263 pacientes con embarazos entre 21.8 y 36.2 semanas de gestación. De las 263 pacientes que ingresaron en el estudio, 257 pacientes contaban con un embarazo con feto único, 6 pacientes con embarazo múltiple de las cuales 5 con embarazo doble y 1 paciente con embarazo triple.

Las características generales de las pacientes se presentan en la tabla 1 y que corresponden a las esperadas para la población del INPer.

**Tabla 1**  
**Características generales**

Característica	Promedio	Intervalo
Edad (años)	27.21	17/41
Número de embarazos	2.52	1/7
Semanas de Gestación al ingreso	30.2	21.8/36.2
Semanas de gestación a la resolución del embarazo	38.4	23.3/40.6
Peso del Recién Nacido	3,205 g	460/4160 g

Del total de pacientes que se estudiaron, 150 (57.0%) llegaron a término en la evolución de su embarazo y 113 (42.9%) presentaron parto pretérmino (PP). La vía de resolución más común fue la abdominal, que se realizó en 181 pacientes (69.0%). El antecedente de parto pretérmino se documentó en 33 pacientes (12.9%).

Los resultados de fibronectina fetal de pacientes con y sin desarrollo de parto pretérmino se muestran en la tabla 2.

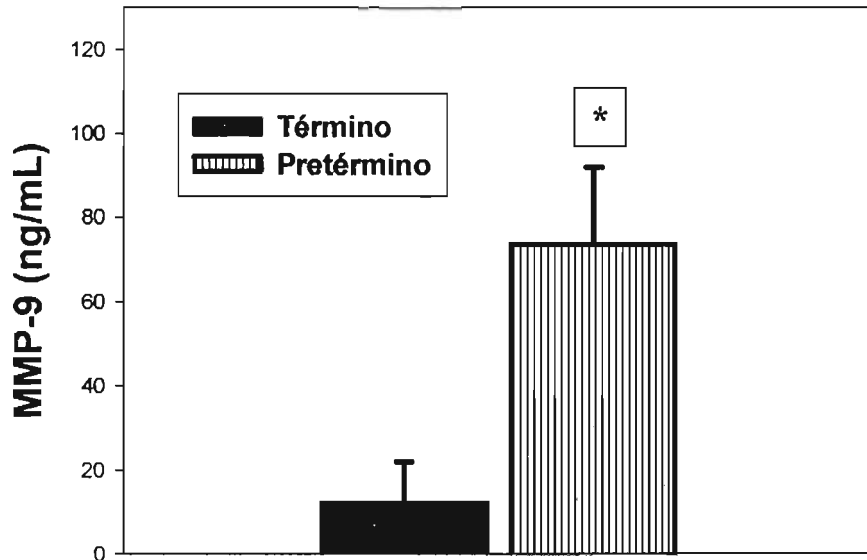
**Tabla 2**  
**Fibronectina oncofetal**

Parto Pretérmino	FnOnc positiva (%)	FnOnc negativa (%)
Sí	65 (58)	48 (42)
No	27 (18)	123 (82)

La presencia de fibronectina oncofetal en el exudado cervicovaginal es significativamente más frecuente en las mujeres que desarrollaron nacimiento pretérmino ( $\chi^2= 42.54$ ;  $p = 6.9 \times 10^{-11}$ ). Sin embargo, éste marcador mostró un valor predictivo positivo de 57.52% y valor predictivo negativo de 82.0%. Por otro lado, el cálculo de sensibilidad fue de 70.65% y el de especificidad de 71.92%. Dado que se evaluó el desarrollo del nacimiento pretérmino de manera posterior a la toma de la muestra, fue posible calcular el riesgo relativo de una prueba positiva, que es de 3.19 con IC (95%) 2.19-4.65.

La concentración de MMP-9 activa osciló entre 0 y 215.3  $\mu\text{g/mL}$  de exudado cervicovaginal del conjunto de pacientes. Tal y como se observa en la Gráfica 1, las concentraciones de MMP-9 son significativamente mayores en las pacientes que desarrollaron nacimiento pretérmino ( $p < 0.01$ ). Con el conjunto de resultados de concentración de MMP-9 se analizó la concentración que permite distinguir entre los casos que desarrollaron y los que no evolucionaron al parto pretérmino. Con éste análisis se concluyó que la concentración de MMP-9 arriba de 10  $\text{ng/mL}$  es predictiva del desarrollo de nacimiento pretérmino (Gráfica 2). Con este punto de corte, se calcularon los valores predictivos, sensibilidad y especificidad de la prueba y los riesgos relativos para la prueba positiva.

## Concentración de MMP-9 en exudados



GRAFICA 1

Los resultados de MMP-9 en las pacientes que desarrollaron parto pretérmino se muestran en la tabla 3.

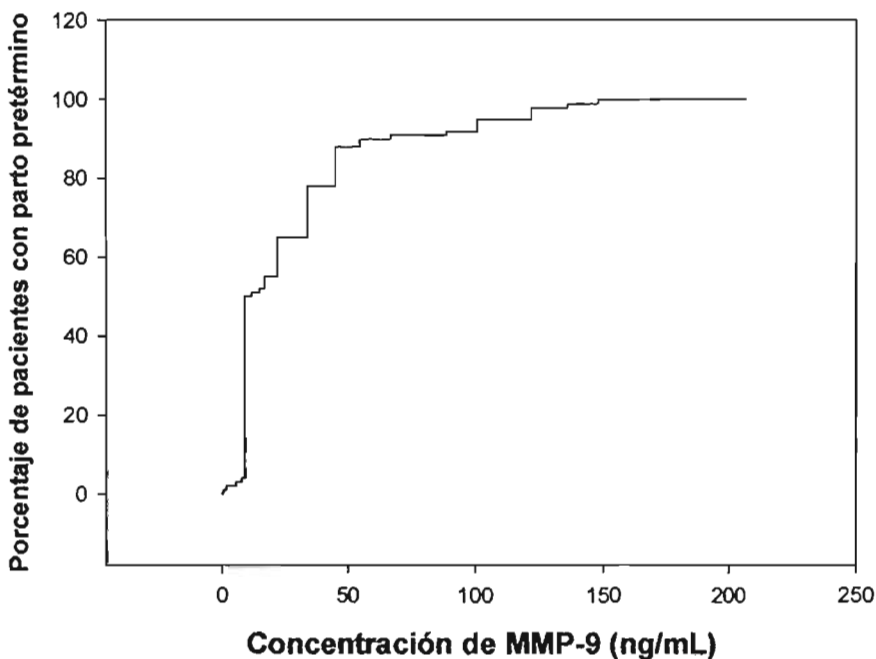
Tabla 3  
MMP-9

Parto Pretérmino	MMP-9 positiva (%)	MMP-9 negativa (%)
Sí	88 (78)	25 (22)
No	12 (8)	138 (92)

También de esta manera la presencia de MMP-9 en su forma activa resultó más frecuente en las pacientes que desarrollaron parto pretérmino, de una manera altamente significativa ( $\chi^2= 130.58$ ;  $p= 3.0 \times 10^{-30}$ ). La utilidad clínica de la prueba positiva (arriba de 10 ng/mL) mostró que tiene valor predictivo positivo de 77.8% y valor predictivo negativo de 92.0%. La sensibilidad de ésta prueba para parto pretérmino fue de 88% y la especificidad de 84.66%. Por otro lado, la determinación de una prueba positiva, tiene un riesgo relativo de 9.73 con IC (95%) 5.6-16.8.

GRAFICA 2

### Punto de corte para MMP-9



Se analizó la capacidad predictiva de los dos marcadores estratificando la edad gestacional en la que fue positiva cada una de las pruebas, para distinguir la presencia de nacimiento pretérmino. Con objeto de acumular un tamaño de muestra significativo de cada grupo, se establecieron cuatro estratos, considerando 24, 26, 28 y 30 semanas de gestación (Tablas 4 y 5).

**Tabla 4**

**Valor predictivo de la determinación de fibronectina por edad gestacional.**

Edad gestacional	Positivas (%)	Sensibilidad (IC 95%)	Especificidad	Valor predictivo positivo
24	5.0	0.53 (0.16-0.30)	0.77	0.56
26	5.2	0.48 (0.11-0.40)	0.76	0.55
28	6.1	0.62 (0.12-0.38)	0.75	0.60
30	2.7	0.68 (0.19-0.47)	0.77	0.55

**Tabla 5**

**Valor predictivo de la determinación de MMP-9 por edad gestacional.**

Edad gestacional	Positivas (%)	Sensibilidad (IC 95%)	Especificidad	Valor predictivo positivo
24	4.0	0.73 (0.16-0.30)	0.77	0.76
26	3.2	0.84 (0.11-0.40)	0.86	0.75
28	7.1	0.82 (0.12-0.38)	0.85	0.80
30	7.7	0.80 (0.19-0.47)	0.87	0.75

## XI. DISCUSION

El nacimiento pretérmino es uno de los principales problemas de salud a nivel mundial y México no escapa ésta situación. El parto pretérmino complica al menos el 12% de todos los embarazos en nuestro país. (3) En Estados Unidos, la incidencia de parto prematuro ha aumentado a 10.6% en 1990, 11.6% en el año 2000 y 11.9% en el año 2001. (4)

Todo esto ha sucedido a pesar de los adelantos en la medicina y el esfuerzo para conocer a fondo la fisiopatología del parto pretérmino.

En el Instituto Nacional de Perinatología la incidencia de parto pretérmino en pacientes que ingresan a la unidad tocoquirúrgica para uteroinhibición parenteral es del 11.7% según el departamento de estadística, lo cual es similar a lo reportado en la literatura mundial.

El nacimiento pretérmino es la principal causa de morbilidad y mortalidad neonatal y es responsable del 80 a 90% de las muertes neonatales excluyendo aquellas que se deben a alteraciones congénitas letales. (4) Dado el gran impacto que tiene la prematuridad en la morbimortalidad neonatal se ha vuelto una prioridad de salud identificar a aquellas mujeres que tienen un riesgo elevado de desarrollar parto pretérmino.

El impacto que tiene el parto pretérmino en los servicios de salud ha resaltado la necesidad de establecer medidas preventivas para evitar su desarrollo y ha conducido a la evaluación de diversos marcadores que permiten evaluar el riesgo para desarrollar esta complicación del embarazo. Desgraciadamente, ningún marcador ha mostrado tener utilidad general y la prevalencia mundial del parto pretérmino permanece sin ser modificada desde hace 40 años. (24)

Hasta el momento no hay suficientes estudios que apoyen el uso de estriol en saliva, la monitorización de la actividad uterina en casa o la búsqueda de vaginosis bacteriana como estrategias para identificar o prevenir el parto pretérmino. (21)

El ultrasonido para medir la longitud cervical, la fibronectina oncofetal o la combinación de ambos se han usado como marcadores para predecir el parto pretérmino y en estudios previos se ha demostrado su utilidad, la cual se basa principalmente en su alto valor predictivo negativo para evitar el uso de tratamientos innecesarios.

La fibronectina oncofetal había sido el marcador más fuerte para la predicción de parto pretérmino en concentraciones mayores a 50 ng/ml después de las 20 semanas de gestación. El uso de fibronectina oncofetal para pacientes con sospecha de parto pretérmino ha ayudado a reducir los costos en su manejo en un 50%. (45) Se han propuesto algoritmos de manejo en pacientes con

síntomas de parto pretérmino y se han realizado estudios para ver el costo-beneficio de su uso y en uno de ellos se encontró que la fibronectina y la medición de la longitud cervical para el tratamiento dirigido en pacientes con mayor riesgo tiene el mayor beneficio en costo y previene los casos de síndrome de distrés respiratorio neonatal y reduce la mortalidad neonatal, en comparación con la estrategia de tratar a todas las pacientes con síntomas de parto pretérmino. (46)

El uso de múltiples marcadores nos ayuda a determinar con mayor precisión aún el riesgo en pacientes para desarrollar parto pretérmino y la combinación de los mismos aumenta el riesgo. (47) La MMP-9 se ha estudiado en diferentes condiciones como es el desarrollo de parto pretérmino, la remodelación cervical y la ruptura prematura de membranas. Esta enzima aumenta su actividad en el momento del parto ya sea de término o pretérmino. (55, 56) y la forma activa de la enzima es la que se ha visto involucrada en pacientes con RPM (59).

En el presente estudio se incluyeron 263 pacientes que acudían a urgencias con amenaza de parto pretérmino. En este grupo la incidencia de parto pretérmino fue del 42.9% recordando que eran pacientes sintomáticas y que la prueba no se aplicó a la población en general, ya que hasta el momento en la literatura mundial no se ha comprobado la utilidad del uso de marcadores biológicos de parto pretérmino en la población obstétrica en general. El antecedente de parto pretérmino se observó en el 12.9% de pacientes, siendo un factor de riesgo muy importante para tener un parto pretérmino subsecuente y el riesgo va de acuerdo al número de partos pretérminos previos.

En este estudio se encontró que la fibronectina oncofetal en nuestra cohorte tiene un valor predictivo positivo de 57.52% y un valor predictivo negativo de 82.0%, con una sensibilidad del 70.65% y el de especificidad del 71.92% con un RR de 3.19 (IC 95%; 2.19- 4.65). Estos valores van de acuerdo a lo reportado en la literatura mundial en donde se han reportado más de 30 estudios. En uno de los metaanálisis de 27 estudios se reporta una sensibilidad de 61% y una especificidad de 83%. (69) La principal utilidad de la fibronectina es su valor predictivo negativo el cual fue en este estudio del 82%, sin embargo otros autores han demostrado un VPN tan alto como 99.2% (44). Esto nos permite identificar a aquellas mujeres que tienen síntomas de parto pretérmino pero tienen un riesgo disminuido de desarrollarlo y así evitar tratamientos innecesarios.

La MMP-9 activa se eleva significativamente en pacientes que desarrollan parto pretérmino ( $p < 0.01$ ) y se calculó el punto de corte en 10 ng/mL según la curva ROC. En el estudio se encontró que la prueba tiene un VPP de 77.8% y VPN de 92%, con una sensibilidad de 88% y una especificidad de 84.6%. Estos datos son muy superiores a los que encontramos para la fibronectina oncofetal. Hasta el momento no se han reportado valores tan favorables de un marcador pronóstico de parto pretérmino en la literatura mundial. En este caso la utilidad del marcador no sólo se limita a tener la seguridad de que las pacientes que tienen la prueba negativa es muy poco probable que tengan parto pretérmino sino que también

nos permite identificar a aquellas pacientes con alto riesgo en donde se justificaría una intervención clínica, lo cual no sucede con la fibronectina. El RR que se encontró es de 9.73 con IC (95%) 5.6-16.8, mucho mayor al encontrado con la fibronectina. En estos casos es probable que sean eficientes las intervenciones médicas y sería importante realizar estudios de costo-beneficio para la MMP-9.

La prueba de la fibronectina tiene pocas variaciones en cuanto a su sensibilidad, especificidad, VPP y VPN al estratificarla para diferentes edades gestacionales como se ve en la tabla 4. Solo se observa una ligera tendencia a aumentar su sensibilidad a mayor edad gestacional, pero sin grandes variaciones en el VPP. La MMP-9 muestra resultados muy similares si se estratifica por diferentes edades gestacionales. Solamente a las 24 semanas se observó una menor sensibilidad y especificidad pero los VPP fueron muy similares en las diferentes edades gestacionales. Esta estratificación nos habla de que la prueba de la MMP-9 es muy útil a diferentes edades gestacionales como marcador pronóstico de parto pretérmino con mejores resultados que la fibronectina oncofetal según el presente estudio.

El parto pretérmino aún sigue siendo un problema muy importante en la obstetricia. Las principales intervenciones que han tenido utilidad en disminuir la morbilidad neonatal es el uso de inductores de madurez pulmonar fetal que ayudan a disminuir la incidencia de SRS. Las intervenciones con tocolíticos, antimicrobianos y progesterona han tenido poco beneficio en éstas pacientes. Sin embargo, hay reportes recientes que demuestran que el uso de progesterona tiene un efecto protector en pacientes con riesgo de desarrollar parto pretérmino. En el metaanálisis de 5 estudios en donde se usó 17a-hidroxiprogesterona se observó que este medicamento tiene un efecto protector con un OR de 0.50; (IC 95% 0.30-0.85). También el estudio de Meis y colaboradores demostró que la 17a- hidroxiprogesterona tiene un efecto protector y tenían menor probabilidad de nacimiento antes de las 37 semanas RR 0.66 (IC 95% 0.54-0.93), a las 35 semanas RR 0.67 (IC 95% 0.48-0.93) y a las 32 semanas RR 0.58 (IC 95% 0.37-0.91). (71) Sin embargo su uso no se ha estandarizado.



## XII. CONCLUSIONES

La utilidad del desarrollo de un marcador de parto pretérmino radica que podamos entender mejor la fisiopatología del parto pretérmino; que conozcamos que pacientes están en riesgo de padecerlo; que se puedan hacer las intervenciones necesarias para disminuir la morbilidad y mortalidad neonatal; y por último, que se realicen estudios para realizar algún tipo de tratamiento específico que impida el desarrollo del parto pretérmino.

La fibronectina oncofetal es un marcador cuya principal utilidad es el alto valor predictivo negativo que tiene esta prueba. En la práctica clínica esto es útil ya que una prueba negativa nos sirve para determinar aquellas pacientes que no desarrollarán parto pretérmino. Esta conducta puede evitar el uso de tratamientos innecesarios en pacientes con amenaza de parto pretérmino. En la literatura mundial se han reportado más de 30 estudios en pacientes sintomáticas que reportan resultados similares.

El uso de múltiples marcadores nos ayuda a determinar con mayor precisión aún el riesgo en pacientes para desarrollar parto pretérmino y poder realizar las intervenciones necesarias.

La metaloproteinasa 9 (MMP-9) activa es una proteasa que aumenta su concentración al momento del trabajo de parto ya sea pretérmino o de término y de ahí viene su utilidad de usarla como marcador biológico de parto pretérmino. En este estudio se observó que la MMP-9 activa es mejor prueba diagnóstica para predecir parto pretérmino que la fibronectina oncofetal. Tiene un alto valor predictivo negativo (mayor que el observado para fibronectina), cuya utilidad es evitar el tratamiento de mujeres que no desarrollarán parto pretérmino. Asimismo tiene un alto valor predictivo positivo, mayor que el de la fibronectina oncofetal y el de otros marcadores biológicos descritos en la literatura. Esto nos permite realizar tratamientos oportunos para evitar la morbimortalidad neonatal asociada con el parto pretérmino y permitirá realizar estudios a futuro para comprobar la utilidad costo-beneficio de éste marcador.

La importancia de éstos marcadores se verá conforme se realicen maniobras más efectivas para evitar el parto pretérmino. Es evidente que el uso de mejores marcadores nos permitirán conocer más a fondo las causas y mecanismos del parto pretérmino y conjuntamente planear estrategias para evitar su aparición y para disminuir la morbimortalidad neonatal. Todo esto tendrá sin duda, un gran impacto en los servicios de salud y en el costo de los mismos.

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

## ANEXO 1

### Protocolo de ELISA

Anticuerpo de Captura:

1. Diluir el anticuerpo monoclonal antiMMP-9 a 1-4  $\mu\text{g/mL}$  en solución de unión. Agregar 50  $\mu\text{L}$  del anticuerpo a placas para ELISA, Nunc Maxisorb.

2. Sellar la placa e incubar a 4°C por toda la noche.

Bloqueo de las placas:

3. Poner las placas a temperatura ambiente y remover la solución de anticuerpo de captura. Agregar 200  $\mu\text{L}$  de solución de bloqueo por pozo.

4. Sellar la placa e incubar a temperatura ambiente por 2 h.

5. Lavar 5 veces con PBS/Tween.

Estándar y/ó muestras:

6. Agregar la MMP-9 recombinante en un rango de 100 ng a 1  $\mu\text{g/mL}$ , diluída en buffer de bloqueo. Ajustar el volumen a 100  $\mu\text{L}$ .

7. Sellar la placa e incubar 2-4 hr a temperatura ambiente ó a 4°C durante toda la noche.

8. Lavar 5 veces con PBS/Tween.

Anticuerpo de detección:

9. Marcar el anticuerpo policlonal antiMMP-9 con biotina, conforme al protocolo del vendedor (Vector, USA).

10. Diluir el anticuerpo biotilado entre 0.5-2  $\mu\text{g/mL}$  en Buffer de bloqueo. Agregar 100  $\mu\text{L}$  de anticuerpo diluido a cada pozo.

11. Sellar la placa e incubar por 1 h a temperatura ambiente.

12. Lavar 5 veces con PBS/Tween.

Complejo Avidina-Fosfatasa alcalina (Av-PA):

13. Diluir el conjugado Av-PA en buffer de bloqueo a la concentración óptima que se predifinió. Agregar 100  $\mu\text{L}$  por pozo.

14. Sellar la placa e incubar por 30 min a temperatura ambiente.

15. Lavar 5 veces con PBS/Tween.

Substrato:

16. Preparar la solución de sustrato inmediatamente antes de uso. Agregar 100  $\mu\text{L}$  en cada pozo. Incubar a temperatura ambiente hasta el desarrollo de color (5-30 min). La reacción se para con solución de terminación.

17. Leer la densidad óptica en un lector de microplacas.

### Soluciones:

**Solución de unión:** 0.1 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , ajustar pH a 9.0 con 0.1 M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ .

**Solución PBS:** 80.0 g NaCl, 11.6 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 2.0 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 2.0 g KCl, para 10 L; pH 7.0

**PBS/Tween@:** 0.5 ml de Tween @ -20 en 1 L PBS.

**Buffer de bloqueo:** Preparar suero fetal de ternera al 10% ó albúmina sérica bovina al 1% (grado ELISA) en PBS. El Buffer debe ser filtrado antes de su uso.

**Buffer de bloqueo/Tween@:** Agregar 0.5 ml Tween @ -20 a 1 L de buffer de bloqueo.

**Solución de terminación:** (20% SDS/50% DMF): Agregar 50 ml de dimetilformamide (DMF) a 50 ml de  $\text{H}_2\text{O}$ , agregar 20.0 g de sodio dodecil sulfato (SDS).

## **ANEXO 2**

### **Hoja de Consentimiento Informado**

**“Evaluación de la fibronectina oncofetal y de la MMP-9 como marcador clínico pronóstico del parto pretérmino”.**

#### **INVITACIÓN DE PARTICIPACIÓN:**

Por este conducto se le invita a participar en un estudio de investigación realizado por el Instituto Nacional de Perinatología que tiene por objeto conocer si la determinación de los compuestos llamados fibronectina oncofetal y MMP-9 en secreciones cervicovaginales ayudará a identificar a las mujeres que ya han desarrollado amenaza de parto pretérmino y que progresarán al desarrollo del parto antes del término de la gestación. Esta complicación del embarazo provoca que los bebés nazcan pequeños e inmaduros, en especial de sus pulmones, lo que pone en peligro su vida.

**PROPOSITO:** El propósito de este estudio es conocer si se puede identificar con una prueba de laboratorio a las mujeres que han iniciado de manera irreversible el desarrollo de parto pretérmino. El presente estudio permitirá saber si la determinación de dos proteínas llamadas fibronectina oncofetal y MMP-9 puede servir para identificar a éste grupo de mujeres.

**METODOLOGIA:** Si usted esta de acuerdo en participar en este estudio, se le tomarán una muestra de secreciones cervicovaginales en el momento en que se inicie su manejo hospitalario. La toma de las secreciones las hace el personal entrenado del Instituto y es una maniobra rutinaria que se hace en todas las mujeres embarazadas.

**RIESGOS:** No existe ningún riesgo al momento de la toma de las secreciones cervicovaginales. Algunas mujeres experimentan cierta molestia al momento de la toma, pero no se hace daño físico alguno.

**COSTOS Y RIESGOS FINANCIEROS:** Las tomas de las muestras y los análisis para determinar los dos compuestos mencionados serán proporcionadas sin ningún costo. Como participante del estudio, tendrá que pagar los procedimientos normales de atención de su embarazo y parto.

**BENEFICIOS:** Estudios de investigación han demostrado que la fibronectina oncofetal y la MMP-9 podrían ser buenos marcadores de riesgo aumentado para desarrollar parto pretérmino. Si usted participa en este estudio, puede no haber ningún tipo de beneficio directo para usted por el momento, pero ayudará a determinar si estas pruebas podrían servir para identificar en el futuro a mujeres en riesgo para tener parto pretérmino y/o ruptura prematura de membranas.

**IMPLICACIONES EN EL EMBARAZO:** Bajo las condiciones de la toma de muestras, no existe riesgo tanto para la madre como para el feto.

**ALTERNATIVAS:** Si usted decide no participar en el estudio su cuidado prenatal no se verá afectado de ninguna manera.

**COMPENSACIÓN:** No existirá ningún tipo de compensación por su participación.

**CONFIDENCIALIDAD:** Se intentará mantener toda la información obtenida en este estudio estrictamente confidencial excepto la información que la ley requiera. En caso de que los resultados de este estudio se publiquen su nombre no será mencionado.

**INFORMACIÓN ADICIONAL:** Cualquier tipo de información que se identifique durante el estudio y que perjudique su bienestar, le será informado de modo inmediato.

**ABANDONO DEL ESTUDIO:** Usted debe entender que su participación en el estudio es totalmente voluntaria y también es importante que sepa que se podrá retirar del estudio en cualquier momento, sin que esto afecte su atención médica presente o futura. También es importante que usted sepa que si el médico que la atiende encuentra que por beneficio de usted debe abandonar el estudio, deberá seguir la recomendación del médico.

**LESIONES /COMPLICACIONES:** En caso de cualquier lesión física como resultado de la metodología del estudio se le proporcionará atención y tratamiento médico sin costo alguno para usted, sin embargo no se le dará ningún tipo de compensación económica por parte del Instituto Nacional de Perinatología. En el caso de que se presente algún tipo de gasto médico no atribuible a las condiciones del estudio, éste deberá ser financiado por usted o por la persona responsable de sus gastos.

**DERECHOS DEL SUJETO:** Si usted requiere obtener mayor información acerca de sus derechos como sujeto de investigación, puede contactar al Director del Comité de Ética del Instituto Nacional de Perinatología ( 5520-55-00 ).

Es de su conocimiento que si tiene alguna duda acerca de su participación en el estudio también puede contactar al médico responsable a los teléfonos que se encuentran en la primera página.

Por favor tenga en cuenta que usted tiene la oportunidad de hacer cualquier pregunta relacionada con el estudio y que ésta le sea contestada a su entera satisfacción.

**CONCLUSIONES:**

1. Usted ha leído y entendido la presente forma de consentimiento.
2. Usted esta de acuerdo en participar en este estudio de investigación.
3. Al firmar abajo usted recibirá una copia de esta carta.

---

Nombre y firma del paciente / fecha/ hora

---

Nombre y firma de la persona que obtiene el consentimiento/fecha/hora

---

Nombre y firma del investigador responsable/fecha/hora (si es distinto al anterior)

## XII. BIBILOGRAFIA

- 1.- Anuario Estadístico. Instituto Nacional de Perinatología. Edición 2000
- 2.- American College of Obstetricians and Gynecologists. Preterm labor, Technical Bulletin No.206. June 1995.
- 3.- Rogowski J. The economics of preterm delivery. *J Perinatol* 1999;55:12-14.
- 4.- Steer P. The epidemiology of preterm labour. *BJOG* 2005;112(S1):1-3.
- 5.- Taipale P, Hiilermaa V. Predicting delivery date by ultrasound and last menstrual period on early gestation. *Obstet Gynecol* 2001;97:189-94.
- 6.- Tyson JE, Younes N, Verter J, et al. Viability, morbidity and resource use among newborns of 501- to 800-g birth weight. National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *JAMA* 1996;276:1645-51.
- 7.- Lemons JA, Bauer CR, Oh W, et al. Very low birth weight outcomes of the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, January 1995 through December 1996. *Pediatrics* 2001;107:1-8.
- 8.- Hack M, Flannery DJ, Schluchter M, et al. Outcomes in young adulthood for very low birth weight infants. *N Engl J Med* 2002;346:149-157.
- 9.- Majzoub JA, McGregor JA, Lockwood CJ, Smith R, Taggart MS, Schulkin J. A central theory of preterm and term labor: putative role for corticotropin-releasing hormone. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:S232-41.
- 10.- Lockwood CJ. Stress-associated preterm delivery: the role of corticotropin-releasing hormone. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:S264-6.
- 11.- Lockwood CJ, Radunovic N, Nastic D, Petkovic S, Aigner S, Berkowitz GS. Corticotropin-releasing hormone and related pituitary-adrenal axis hormones in fetal and maternal blood during the second half of pregnancy. *J Perinat Med* 1996;24:243-51.
- 12.- Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med* 2000;342:1500-7.
- 13.- Lockwood C. Testing for risk of preterm delivery. *Clin Lab Med* 2003;23:345-60.
- 14.- Salafia C, Lopez-Zeno J, Sherer D, Whittington S, Minior V, Vintzileos A. Histologic evidence of old intrauterine bleeding is more frequent in prematurity. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1065-70.
- 15.- El Maradny E, Kanayama N, Halim A, Maehara K, Terao T. Stretching of fetal membranes increases the concentration of interleukin-8 and collagenase activity. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:843-9.
- 16.- Creasy R, Resnik R., Editores. Maternal Fetal Medicine. Principles and Practice. 5<sup>th</sup> ed. USA: Saunders; 2004.
- 17.- Watts D, Krohn M, Hillier S, et al. The association of occult amniotic fluid infection with gestational age and neonatal outcome among women in preterm labor. *Obstet Gynecol* 1992;79:351-7.
- 18.- Carey J, Kelbanoff M, Hauth J, Hillier S, Thom E, Ernest J, et al. Metronidazole to prevent preterm delivery in pregnant women with asymptomatic bacterial vaginosis. *N Engl J Med* 2000;342:534-40.
- 19.- Goldenberg R, Klebanoff M, Nugent R, et al. Bacterial colonization of the vagina in four ethnic groups. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1618-21.

- 20.- Genc M, Gerber S, Nesin M, et al. Polymorphism in the interleukin-1 gene complex and spontaneous preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:157-63.
- 21.- Assessment of Risk Factors for Preterm Birth. ACOG Practice Bulletin No. 31. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2001;98:709-16.
- 22.- Ekwo E, Gosselink C, Moawad A. Unfavorable outcome in penultimate pregnancy and premature rupture of membranes in successive pregnancy. *Obstet Gynecol* 1992;80:166-72.
- 23.- Strobino B, Pantel-Silverman J. Gestational vaginal bleeding and pregnancy outcome. *Am J Epidemiol* 1989;129:806-15.
- 24.- Mercer B, Goldenberg R, Das A et al. The preterm prediction study: a clinical risk assessment system. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1885-95.
- 25.- Goldenberg R, Iams J, Miodovnik M, et al. The preterm prediction study: Risk factors for twin gestations. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:1047-53.
- 26.- Konte JM, Creasy RK, Laros RK. California north coast preterm birth prevention project. *Obstet Gynecol* 1998;71:727-30.
- 27.- Main DM, Richardson DK, Hadley CB, Gabbe SG. Controlled trial of a preterm labor detection program: efficacy and costs. *Obstet Gynecol* 1989;74:873-7.
- 28.- Iams J, Newman R, Thom E, et al. Frequency of uterine contractions and the risk for spontaneous preterm delivery. *N Engl J Med* 2002;346:250-5.
- 29.- Brocklehurst P, Hannah M, McDonald H. Interventions for treating bacterial vaginosis in pregnancy *Cochrane Database Syst Rev* 2000;2:CD000262. Oxford: Update Software.
- 30.- McGregor J, Jackson G, Lachelin G, et al. Salivary estriol as risk assessment for preterm labor: a prospective trial. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1337-42.
- 31.- Goffinet F. Primary predictors of preterm birth. *BJOG* 2005;112(S1):38-47.
- 32.- Leitich H, Brunbauer M, Kaider A, Egarter C, Husslein P. Cervical length and dilatation of the internal cervical os detected by vaginal ultrasonography as markers for preterm birth: a systematic review. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:1465-72.
- 33.- Iams J, Goldenberg R, Meis P, Mercer B, Moawad A, Das A, et al. The length of the cervix and the risk for spontaneous premature delivery. National Institute of Child Health and Human Development Maternal Fetal Medicine Unit Network. *N Engl J Med* 1996;334:567-72.
- 34.- Lockwood CJ, Ghidini A, Wein R, et al. Increased interleukin-6 concentrations in cervical secretions are associated with preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171:1097-102.
- 35.- Elovitz MA, Baron J, Phillippe M. The role of thrombin in preterm parturition. *Am J Obstet Gynecol* 2001;185:1059-63.
- 36.- Lockwood CJ, Senyei AE, Dische MR, Casal D, Shah KD, Thung SN, et al. Fetal fibronectin in cervical and vaginal secretions as a predictor of preterm delivery. *N Engl J Med* 1991;325:669-74.
- 37.- McKenna DS, Chung K, Iams JD. Effect of digital cervical examination on the expression of fetal fibronectin. *J Reprod Med* 1999;44:796- 800.

- 38.- Shimoya K, Hashimoto K, Shimizu T, Saji F, Murata Y. Effect of sexual intercourse on fetal fibronectin concentration in cervicovaginal secretions. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:255– 6.
- 39.- Goffeng A, Holst E, Milsom I, Lindstedt G, Lundberg P, Andersch B. Fetal fibronectin and microorganisms in vaginal fluid of healthy pregnant women. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1996; 75:520– 5.
- 40.- Goepfert A, Goldenberg R, Mercer B, Iams J, Meis P, Moawad A, et al. The preterm prediction study: Quantitative fetal fibronectin values and the prediction of spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:1480– 3.
- 41.- Goldenberg R, Mercer B, Meis P, Copper R, Das A, McNellis D, for the NICHD Maternal Fetal Medicine Units Network. The Preterm Prediction Study: fetal fibronectin testing and spontaneous preterm birth. *Obstet Gynecol* 1996;87:643– 8.
- 42.- Honest H, Bachmann L, Gupta J, Kleijnen J, Khan K. Accuracy of cervicovaginal fetal fibronectin test in predicting risk of spontaneous preterm birth: systematic review. *BMJ* 2002;325:1–10.
- 43.- Iams JD, Casal D, McGregor JA, et al. Fetal fibronectin improves the accuracy of diagnosis of preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:141-5.
- 44.- Peaceman AM, Andrews WW, Thorp JM, et al. Fetal fibronectin as a predictor of preterm birth in patients with symptoms: a multicenter trial. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:13-8.
- 45.- Joffe G, Jacques D, Bemis-Heys R, et al. Impact of the fetal fibronectin assay on admissions for preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:581-6.
- 46.- Mozurkewich EL, Naglie G, Krahn MD. Predicting preterm birth: A cost-effectiveness analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182:1589–98.
- 47.- Goldenberg RL, Iams JD, Das A, et al. The Preterm Prediction Study: sequential cervical length and fetal fibronectin testing for the prediction of spontaneous preterm birth. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182:636-43.
- 48.- Iams J, Goldenberg R, Mercer B, Moawad A, Thom E, Meis P, et al. The Preterm Prediction Study: recurrence risk of spontaneous preterm birth. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. *Am J Obstet Gynecol* 1998;178:1035-40.
- 49.- Weiss A, Goldman S, Shlomo I, Eyali V, Leibovitz S, Shalev E. Mechanisms of matrix metalloproteinase-9 and matrix metalloproteinase-2 inhibition by N-acetylcysteine in the human term decidua and fetal membranes *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:1758-63.
- 50.- Facchinetti F, Venturini P, Blasi I, Gianella L. Changes in the cervical competence in preterm labour. *BJOG* 2005;112(S1):23-27.
- 51.- Arechavaleta-Velasco F, Marciano D, Díaz-Cueto L, Parry S. Matrix metalloproteinase-8 is expressed in human chorion during labor. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190:843-50.
- 52.- Vadillo-Ortega F, Estrada-Gutiérrez G. Role of matrix metalloproteinases in preterm labour. *BJOG* 2005;112(S1):19-22.
- 53.- Hernández-Guerrero C, Monzón-Bordonaba F, Jiménez-Zamudio L, et al. In vitro secretion of proinflammatory cytokines by human amniochorion carrying



hyper-responsive gene polymorphisms of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta. *Mol Hum Reprod* 2003;9:625-9.

54.- Fortunato S, Menon R, Lombardi S. Role of tumor necrosis factor- $\alpha$  in the premature rupture of membranes and preterm labor pathways *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:1159-62.

55.- Vadillo-Ortega F, González G, Furth E, Lei H, Muschel R, Stetler W, Strauss J. 92 kDa Type-IV Collagenase (Matrix Metalloproteinase-9) activity in human amniochorion increases with labor. *Am J Pathol* 1995;146:148-56.

56.- Xu P, Alfaiay N, Challis J. Expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 in human placenta and fetal membranes in relation to preterm and term labor. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1353-61.

57.- Vadillo-Ortega F, Sadowsky D, Haluska G, Hernandez-Guerrero C, Guevara-Silva R, Gravett M, Novy M. Identification of matrix metalloproteinase-9 in amniotic fluid and amniochorion in spontaneous labor and after experimental intrauterine infection or interleukin-1 $\beta$  infusion in pregnant rhesus monkeys. *Am J Obstet Gynecol* 2002;186:128-38.

58.- Hampton AL, Nie G, Salamonsen LA. Progesterone analogues similarly modulate endometrial matrix metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-3 and their inhibitor in a model for long-term contraceptive effects. *Mol Hum Reprod* 1999; 5:365-71.

59.- Athayde N, Edwin S, Romero R, Gomez R, Maymon E, Pacora P, Menon R. A role for matrix metalloproteinase-9 in spontaneous rupture of the fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1998 179:1248-53

60.- McLaren J, Taylor D, Bell S. Increased concentration of pro-matrix metalloproteinase 9 in term fetal membranes overlying the cervix before labor: implications for membranae remodeling and rupture. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182:409-16.

61.- Maymon E, Romero R, Pacora P, Gervasi M, Gomez R, Edwin S, Ion H. Evidence of in vivo differential bioavailability of the active forms of matrix metalloproteinases 9 and 2 in parturition, spontaneous rupture of membranes, and intra-amniotic infection. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:887-94.

62.- Locksmith G, Clark P, Duff P, Saade G, Schultz G. Amniotic fluid concentrations of matrix metalloproteinase 9 and tissue inhibitor of metalloproteinase during pregnancy and labor. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:159-64.

63.- Agrez M, Gu X, Giles W. Matrix metalloproteinase 9 activity in urine of patients at risk for premature delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181:387-8

64.- Tu FF, Goldenberg RL. Prenatal plasma matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) levels as predictors of spontaneous preterm birth. *Obstet Gynecol* 1998;92:446-9.

65.- Vadillo-Ortega F, González Avila G, Karchmer S, Meraz N, Ayala A, Selman M. Collagen Metabolism in premature rupture of amniotic membranes. *Obstet Gynecol* 1990; 75:84-8.

66.- Lei H., Vadillo-Ortega F., Paavola L. and Strauss, J. F. 92-kDa gelatinase (matrix metalloproteinase-9) is induced in rat amnion immediately prior to parturition. *Biol. Reprod.* 1995; 53:339-44.

67.- Parry S, Strauss JF. Premature rupture of the fetal membranes. *N Eng J Med* 1998; 338:663-70.

- 68.- Goldenberg R, Mercer B, Iams J, Moawad A. et al. The preterm prediction study: patterns of cervicovaginal fetal fibronectin as predictors of spontaneous preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:8-12.
- 69.- Leitich H, Egarter C, Kaider A, Hohlagschwandtner M, Berghammer P, Hussein P. Cervicovaginal fetal fibronectin as a marker for preterm delivery: a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:1169-76.
- 70.- Keirse M, Grant A, King JF: Preterm labour. En Chalmers I, Enkin M, Keirse M (editores): *Effective Care in Pregnancy and Childbirth*. New York, Oxford University Press, 1989 p. 694.
- 71.- Meis P, Kelbanoff M, Thom E, Sibai B, Moawad A, Spong C et al for the NICHD Maternal-Fetal Medicine Units Network. Prevention of recurrent preterm birth by 17 alpha-hydroxyprogesterone caproate. *N Engl J Med* 2003;348:2379-85.