



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Facultad de Medicina

DESCRIPCIÓN DE MARCADORES
BIOQUÍMICOS DEL PROCESO DE TRABAJO
DE PARTO PRETÉRMINO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)**

P R E S E N T A

BIÓL. AURORA ESPEJEL NÚÑEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. FELIPE VADILLO ORTEGA

MÉXICO, D.F.

DICIEMBRE 2009



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.

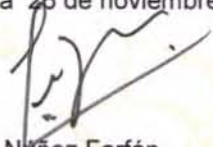
Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 28 de abril de 2008, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)** de la alumna **ESPEJEL NÚÑEZ AURORA** con número de cuenta **88089997** con la tesis titulada **"DESCRIPCIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS DEL PROCESO DE TRABAJO DE PARTO PRETÉRMINO."**, realizada bajo la dirección del **DR. FELIPE VADILLO ORTEGA**:

Presidente: DR. FEDERICO MARTÍNEZ MONTES
Vocal: DR. LUIS ARTURO BAIZA GUTMAN
Secretario: DR. FELIPE VADILLO ORTEGA
Suplente: DRA. LEONOR ESTELA HERNÁNDEZ LÓPEZ
Suplente: DR. ENRIQUE ANTONIO PEDERNERA ASTEGIANO

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 26 de noviembre de 2009.


Dr. Juan Núñez Farfán
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a)

AGRADECIMIENTOS

Mis estudios de posgrado fueron posibles gracias a:

El Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al apoyo otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) a través de la beca No. 189776

Y un agradecimiento especial a los miembros del comité tutorial.

Al Dr. Felipe Vadillo por sus conocimientos impartidos, su motivación y apoyo incondicional para la realización de esta tesis.

Al Dr. Federico Martínez por su disponibilidad, sugerencias y aportaciones al trabajo.

A el Dr. Luis Arturo Baiza porque cada uno de sus comentarios y aportaciones hicieron enriquecer el manuscrito.

Al Dr. Enrique Pedernera por su gran disponibilidad, paciencia y comentarios.

A la Dra. Leonor E. Hernández por la revisión del manuscrito y sus aportaciones al mismo.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

El trabajo de investigación de esta tesis se realizó en el laboratorio de la Dirección de Investigación del Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes” INPerIER.

Agradezco de forma muy especial al Dr. Felipe Vadillo por brindarme la oportunidad de pertenecer a su grupo de trabajo, por sus consejos y enseñanzas brindadas y por estar siempre dispuesto a demostrar que las cosas no siempre son cuadradas y que existen otras formas. Gracias por su confianza.

A mis amigos y compañeros de trabajo: Noemí, Arturo, Toñita, Marisol, Myrna y Paty por los momentos compartidos, experiencias y enseñanzas y su gran apoyo que hicieron más fácil mi estancia en el laboratorio.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mis grandes motores Lupita y Marijose porque son las personitas que más han sufrido por el tiempo que no he pasado con ustedes y a pesar de ello me llenan de amor todos los días, espero que algún día comprendan que cada uno de mis triunfos los realizo para ustedes.

A ti amor por tu comprensión, apoyo incondicional y porque siempre estas ahí cuando más débil me siento para decirme te amo tu puedes.

A mis padres, por la vida, consejos, apoyo y por haberme inculcado el que siempre hay que superarse, los amo.

A Dios que me ha permitido realizarme en todos los aspectos.

INDICE

	PÁGINA
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
ANTECEDENTES	
TRABAJO DE PARTO	5
MIOMETRIO	6
CÉRVIX	9
MEMBRANAS FETALES	17
PLACENTA Y FETO	18
FASES DEL TRABAJO DE PARTO	19
HIPÓTESIS	31
OBJETIVOS	31
DISEÑO EXPERIMENTAL	32
MATERIAL Y MÉTODOS	33
RESULTADOS	37
DISCUSIÓN	56
CONCLUSIONES	65
REFERENCIAS	66

INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURA 1: FASES DEL TRABAJO DE PARTO	20
FIGURA 2: MICROAMBIENTES PARTICIPANTES EN EL TRABAJO DE PARTO	22
FIGURA 3: PROGRESIÓN DEL TRABAJO DE PARTO	31
TABLA 1: CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN	38
FIGURA 4: PERFIL DE CITOCINAS PROINFLAMATORIAS	40
FIGURA 5: PERFIL DE INF γ	41
FIGURA 6: PERFIL DE IL-1Ra	43
FIGURA 7: PERFIL DE CITOCINAS REGULADORAS	44
FIGURA 8: PERFIL DE PGE2	45
FIGURA 9: PERFIL DE GELATINASAS	46
FIGURA 10: PERFIL DE COLAGENASAS	47
FIGURA 11: PERFIL DE FIBRONECTINA FETAL	49
FIGURA 12: PERFILES DE SECRECIÓN POR ESTADIO	50

ANEXOS

ANEXO 1: FORMATO DE REGISTRO Y CAPTURA DE DATOS
ANEXO 2: PROTOCOLO BIO-PLEX, PARA CITOCINAS.
ANEXO 3: PROTOCOLO R&D PARA MMPs.
ANEXO 4: PUBLICACIÓN DERIVADA.

ABREVIATURAS

APP	Amenaza de parto pretérmino
ECV	Exudado Cervicovaginal
fFN	Fibronectina fetal
IL-1β	Interleucina 1 beta
IL-1Ra	Antagonista del receptor a interleucina 1
IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-10	Interleucina 10
IL-12	Interleucina 12
INFγ	Interferón gamma
MMPs	Metaloproteasas de matriz extracelular
MMP-1	Metaloproteasa de matriz extracelular 1/ colagenasa intersticial
MMP-2	Metaloproteasa de matriz extracelular 2/ gelatinasa A
MMP-3	Metaloproteasa de matriz extracelular 3/ estromelisinasa-1
MMP-7	Metaloproteasa de matriz extracelular 7/ matrilisina
MMP-8	Metaloproteasa de matriz extracelular 8/ colagenasa de neutrófilos
MMP-9	Metaloproteasa de matriz extracelular 9/ gelatinasa B
MMP-12	Metaloproteasa de matriz extracelular 12/ metaloelastasa
MMP-13	Metaloproteasa de matriz extracelular 13/ colagenasa 3
PGE₂	Prostaglandina E ₂
TNFα	Factor de Necrosis Tumoral
TP	Trabajo de parto
TPP	Trabajo de parto pretérmino

PALABRAS CLAVE: Trabajo de parto, trabajo de parto pretérmino, inflamación.

DESCRIPCIÓN DE MARCADORES BIOQUÍMICOS DEL PROCESO DE TRABAJO DE PARTO PRETÉRMINO

RESUMEN

Introducción: El trabajo de parto pretérmino es un problema de salud pública mundial. La importancia de comprender el proceso fisiológico en condiciones normales, permitiría equiparar lo que sucede durante la patología. Durante los últimos años se han descrito diferentes moléculas mediadoras del mecanismo de trabajo de parto que incluyen a citocinas, quimiocinas, metaloproteasas de matriz extracelular (MMPs) y otras moléculas (hormonas, factores de crecimiento), a fin de identificar posibles marcadores de predicción del evento de trabajo de parto, con énfasis especial hacia el trabajo de parto pretérmino; El objetivo principal, fue reconstruir y analizar la secreción de moléculas hacia el exudado cervicovaginal de acuerdo a la progresión del trabajo de parto. Se seccionó el evento total en 5 diferentes estadios y 1 más con ruptura prematura de membranas, el objetivo final fue detectar posibles marcadores del evento. **Material y método:** Se incluyeron un total de 194 muestras de exudado cervicovaginal, concentradas de acuerdo con el grado de avance del trabajo de parto de la siguiente manera: 48 en el **Estadio 0**; 22 en el **Estadio 1**; 34 en el **Estadio 2**; 43 en el **Estadio 3**; 28 para el **Estadio 4**, y 19 en el **Estadio 5** con diagnóstico de ruptura prematura de membranas previo a la toma de muestra. A cada una de las muestras se les determinaron 20 distintas moléculas entre citocinas (IL-1b, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNFa, INFg e IL-1Ra); fibronectina fetal, prostaglandina E2 y metaloproteasas de matriz extracelular (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-12 y MMP-13). **Resultados:** En la mayoría de las citocinas se registró incremento conforme avanza el trabajo de parto. Principalmente las citocinas proinflamatorias como son IL-1b, IL-6, TNFa e INFg; a diferencia de IL-1Ra que su secreción disminuye conforme la progresión. Así mismo existe un aumento en secreción de citocinas inmunoregulatoras (IL-2, IL-10). Las concentraciones de MMPs no mostraron diferencias marcadas detectándose cierta tendencia a la disminución hacia los últimos estadios. El porcentaje de muestras positivas a fibronectina fetal aumentó gradualmente hacia los estadios de trabajo de parto avanzado. **CONCLUSION.** La detección de un perfil de secreción que va en aumento en la mayoría de las citocinas conforme avanza el trabajo de parto permite postular al evento como acumulo de señales que amplifican las respuestas por parte de los diferentes microambientes, mismo que permite el avance del trabajo de parto. La respuesta inmunoregulatora se centra en la la secreción disminuida de IL-1Ra. La secreción específica de IL-6 hacia la fase más avanzada del trabajo de parto; el perfil en aumento determinado para TNF α , y principalmente el perfil de IL-1Ra los hacen blancos perfectos de posteriores estudios para la determinación de marcadores específicos del trabajo de parto.

ABSTRACT

Introduction: Preterm labor is a global public health problem. The importance of understanding the physiological process in normal conditions would equate what happens during the disease. In recent years there have been different molecules mediating the mechanism of labor which include cytokines, chemokines, extracellular matrix metalloproteinases (MMPs) and other molecules (hormones, growth factors), to identify possible markers for predicting event labor, with special emphasis to the preterm labor; The main objective was to reconstruct and analyze the secretion of molecules into the cervical fluid according to the progression of labor. Total event was sectioned into 5 different stages and 1 more with premature rupture of membranes, the ultimate goal was to detect possible markers of the event.

Material and methods: A total of 194 cervical fluids, concentrated according to the degree of progress of labor as follows: 48 in Stage 0, 22 in Stage 1, 34 in Stage 2, 43 in Stage 3, 28 for stage 4, and 19 in Stage 5 with a diagnosis of premature rupture of membranes prior to sampling. Each of the samples were measured 20 different molecules between cytokines (IL-1b, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNFa, IL-1Ra and INFg), fetal fibronectin, prostaglandin E2 and matrix metalloproteinase (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-12 and MMP-13).

Results: The majority of cytokine increase was registered as labor progresses. Mainly pro-inflammatory cytokines such as IL-1b, IL-6, TNFa and INFg, unlike IL-1Ra secretion decreases as its progression. Also there is an increased secretion of immunoregulatory cytokines (IL-2, IL-10). The concentrations of MMPs showed no marked differences detected a tendency to decrease towards the later stages. The percentage of fetal fibronectin-positive samples increased gradually toward the stages of labor progress.

CONCLUSION. The detection of a secretion profile that is increasing in most of the cytokines with advancing labor allows us to postulate the event as accumulation of signals that amplify the responses from the different microenvironments, it allows the progress of work delivery. Immunoregulatory response focuses on the decreased secretion of IL-1Ra. The specific secretion of IL-6 into the most advanced stage of labor, the increasing profile given to TNF, and mainly the profile of IL-1Ra make them perfect targets for further studies to determine specific markers of labor.

INTRODUCCIÓN

El trabajo de parto pretérmino (TPP) es un problema de salud pública para el que no se cuenta con medidas preventivas o terapéuticas efectivas, que se explica por el conocimiento parcial que tenemos de la fisiopatogenia del proceso. El TPP se define como presencia de actividad uterina con intensidad que se acompaña de cambios cervicales antes de cumplir las 37 semanas de gestación. Se considera que el origen de esta patología es multifactorial, y en general se acepta que los mecanismos fisiopatogénicos involucrados afectan la función de los tejidos que operan durante el trabajo de parto normal.

Entre los factores de riesgo asociados frecuentemente con el desarrollo de TPP se encuentran variables sociales, malformaciones uterinas o fetales, partos pretérmino previos, así como la infección del tracto cervicovaginal o a nivel intrauterino, causada por diversos patógenos.

A diferencia de esta patología, la etapa final de la gestación normal, es un proceso fisiológico que enmarca el inicio del trabajo de parto, evento que se caracteriza por la interacción tanto de factores maternos como fetales y que culmina con el nacimiento del producto alrededor de la semana 40 de gestación. El mecanismo del trabajo de parto no ha sido totalmente descrito; sin embargo, se acepta la participación sincrónica de los diferentes tejidos involucrados en el evento como son: la placenta, el miometrio, el cérvix y las membranas corioamnióticas. Cada uno de ellos contribuye de manera coordinada durante el evento realizando diversas actividades y liberando señales que actúan de manera paracrina y/o autocrina sobre los otros tejidos. Un ejemplo de ello es la liberación de prostaglandinas por la placenta, quienes actúan sobre el miometrio para estimular las contracciones regulares y efectivas; así mismo las membranas liberan una serie de enzimas degradativas, que dan como resultado la remodelación del cérvix y de las propias membranas fetales para el momento del parto. Es importante

resaltar que no solo es una molécula o un tejido específico el responsable de esa activación del mecanismo del trabajo de parto, sino que es indispensable la intervención de una red de señales, lo que hace aún más complicada la comprensión de dicho mecanismo.

Debido a la alta incidencia de pacientes con amenaza de parto pretérmino (APP) y el alto costo de los servicios especiales que el sector salud debe proporcionar tanto a la madre como al recién nacido, es de suma importancia comprender el proceso fisiológico del parto en condiciones normales, para poder equiparar lo que sucede durante la patología. Trabajos enfocados hacia este conocimiento podría ofrecer una solución o alternativa para el tratamiento adecuado de cada paciente.

Así, durante los últimos años se han descrito diferentes marcadores y mediadores del mecanismo de trabajo de parto con el fin de identificar o predecir eventos dentro del proceso y en especial del trabajo de parto pretérmino. Dentro de ellos podemos mencionar a citocinas, quimiocinas, metaloproteasas de matriz extracelular (MMPs) y otras moléculas (hormonas, factores de crecimiento), Desgraciadamente, ningún marcador tanto clínico como bioquímico ha mostrado tener utilidad general y la prevalencia mundial de parto pretérmino permanece sin ser modificada desde hace 40 años¹. El objetivo principal en este trabajo, fue reconstruir y analizar la progresión del trabajo de parto conjugando el grado de activación clínica; es decir la presencia o no de actividad uterina, porcentaje de borramiento del cérvix, así como la presencia o no de ruptura en las membranas fetales. El tipo de muestra utilizada fue exudado cervicovaginal (ECV) de pacientes que acudieron al servicio de urgencias por iniciar con síntomas de trabajo de parto. En ellas se analizaron una serie de moléculas biológicas, que han sido documentadas como probables participantes de dicho proceso. El objetivo final fue detectar marcadores bioquímicos, que pronostiquen a una persona con riesgo elevado a desarrollar parto pretérmino, ubicando el grado de avance en la secuencia del trabajo de parto.

Son necesarios diversos estudios para comprender totalmente la fisiología del trabajo de parto, en este contexto, el presente trabajo trata de aportar un nuevo enfoque de estudio al fraccionar el evento en diferentes estadios de activación y realizar para cada uno de ellos un análisis global de múltiples moléculas. Esta perspectiva puede referir la participación de dichas moléculas durante un momento específico de la activación del trabajo de parto.

ANTECEDENTES

TRABAJO DE PARTO

En humanos, el período gestacional tiene una duración de alrededor de 40 semanas; al término de este lapso, se inicia una serie de cambios bioquímicos y estructurales en los tejidos gestacionales denominado trabajo de parto; este término, define al proceso fisiológico en donde el miometrio, cérvix, membranas corioamnióticas y feto, se preparan para la etapa final del embarazo, misma que concluye con la expulsión del feto y la placenta desde la cavidad uterina materna, a través de las vías genitales. El evento exacto que lo induce aún se desconoce; sin embargo, la descripción de algunos de los eventos participantes, sugiere que el inicio y progresión del trabajo de parto es el resultado de una compleja sincronía de señales provenientes de cada uno de tejidos antes mencionados², y que induce a la conjunción de la actividad miometrial con los cambios estructurales del cérvix y membranas corioamnióticas³. De manera general, este evento se encuentra enmarcado por un cambio en el patrón de la actividad contráctil presentada por el miometrio durante el período gestacional previo. Dicha actividad presenta varias fases desde el inicio hasta el final de la gestación; Durante la mayor parte del embarazo el miometrio se encuentra en un estado denominado de latencia (con presencia de actividad irregular, esporádica y de muy baja intensidad); lo que es crucial para asegurar el crecimiento y maduración del feto. Una vez concluido el período gestacional y con las primeras contracciones perceptibles de trabajo de

parto, la actividad uterina comienza a presentarse con mayor regularidad, de intensidad y frecuencia alta, siendo capaz de inducir la activación y secreción de segundos mediadores que de forma autocrina y/o paracrina, estimulan y activan al cérvix y a las membranas corioamnióticas⁴.

De esta forma el trabajo de parto representa el evento obstétrico donde los fenómenos locales activos y pasivos, los cambios anatómicos de los órganos maternos, la dinámica uterina, y la expulsión del feto ocurren dentro de la secuencia, magnitud, y duración aceptadas como naturales, sin interferencias, accidentes o complicaciones que ameriten la intervención terapéutica.

Individualmente el miometrio, membranas fetales y cérvix contribuyen con el evento secretando o activando nuevas señales y en su caso respondiendo a ellas, generándose así un concierto de señales, indispensables para la progresión de los cambios bioquímicos y estructurales, característicos del trabajo de parto.

TEJIDOS INVOLUCRADOS EN EL TRABAJO DE PARTO

MIOMETRIO

Como se mencionó antes, este tejido se encuentra relajado durante la mayor parte del período gestacional, con mínimas contracciones de baja intensidad y de forma esporádicas hasta momentos antes del inicio del trabajo de parto.

Su función principal es la coordinación de las contracciones musculares durante todo el periodo de gestación. Debido a su organización estructural basada en músculo, es un tejido rico en tres tipos de filamentos contráctiles: actina, miosina y el filamento intermedio que une a la actina y miosina en una unidad mecánica.

La miosina es una proteína grande formada por dos cadenas pesadas y dos ligeras. La contracción se genera cuando las cadenas pesadas de la miosina se

unen con la actina; así mismo la función de las cadenas ligeras es regular esa interacción, cuando éstas se encuentran fosforiladas se induce la contracción y su defosforilación conduce a la relajación del músculo. Las enzimas que actúan en estos eventos son: la cinasa de las cadenas ligeras de miosina, la que requiere para activarse de calmodulina y del ión calcio; y para la defosforilación es necesaria la acción de la fosfatasa correspondiente.

Las prostaglandinas acentúan el grado de excitación del miometrio promoviendo el influjo de calcio al interior de las células miométriales. La oxitocina estimula la contractibilidad mediada por calcio al actuar sobre sus receptores, mismos que incrementan como respuesta al aumento de los niveles de estrógenos al término de la gestación. Al contrario, la progesterona provoca la relajación muscular por la disminución del flujo de calcio. La relajación también es realizada por el AMP cíclico, el cual promueve el secuestro del calcio en el retículo endoplásmico y disminuye la actividad de la cinasa de cadenas ligeras de miosina.

La contracción muscular del útero debe ser regular y coordinada para que se lleve a cabo un trabajo de parto efectivo. Recientemente, se ha demostrado la existencia de conexiones intercelulares en el miometrio, llamadas uniones en puente ("gap junctions"), las que aumentan la conductividad eléctrica durante el TP y que son probablemente responsables de coordinar la actividad uterina. La formación de estas uniones, al parecer está controlada positivamente por los estrógenos quienes probablemente controlan la síntesis de proteína, además de las prostaglandinas $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$) y E_2 (PGE_2) que promueven la inserción de las proteínas funcionales llamadas conexinas dentro de la membrana plasmática. La regulación negativa se da por la acción de la progesterona.

La actividad del miometrio durante el embarazo presenta cuatro fases:

1. Quiescencia: estado de latencia en que se encuentra el tejido uterino desde el inicio hasta justo antes del final del período gestacional. Las características de esta etapa, es la presencia de actividad uterina

esporádica, irregular y de mínima intensidad, lo que impide su efectividad para activar el mecanismo del trabajo de parto. Para que el tejido uterino conserve su estado de quiescencia es necesaria la participación de diversas hormonas tales como la progesterona, prostaciclina, relaxina, péptido relacionado con la hormona paratiroidea, hormona liberadora de corticotropina, lactógeno placentario humano, péptido relacionado al gen de la calcitonina, adrenomedulina, péptido intestinal vasoactivo y óxido nítrico.

2. Activación: fase en que se induce el estímulo para el comienzo de los cambios bioquímicos y en el patrón de actividad miometrial. Para esta fase es necesaria la acción de estrógeno, existe incremento en la expresión de receptores a prostaglandinas y oxitocina, activación de canales de iones y un incremento de conexina 43 (importante en las uniones en puente).
3. Estimulación: durante esta fase la estimulación de la actividad uterina sigue en aumento y el ritmo de las contracciones se realiza con mayor regularidad logrando la coordinación con los cambios en el cérvix y las membranas corioamnióticas, a manera de retroalimentación positiva para inducir el trabajo de parto y generar los cambios estructurales necesarios. La estimulación de la actividad uterina depende principalmente de la oxitocina y de las prostaglandinas E_2 y $F2\alpha$.
4. Involución: es la fase en donde el útero comienza la regeneración uterina para regresar a su estado de no gravidez. Esta fase es iniciada principalmente por la oxitocina.

CÉRVIX

El cérvix uterino humano es un órgano heterogéneo sumamente complejo que experimenta grandes cambios a lo largo del embarazo y durante la fase del parto⁵. Funciona como una válvula responsable de mantener al feto dentro del útero hasta el final de la gestación y como una barrera de protección contra la invasión de microorganismos de la vagina hacia el útero; durante el trabajo de parto el cérvix se dilata para permitir el paso del producto hacia el mundo exterior por vía vaginal. En cuanto a la estructura de este órgano, en el cérvix domina principalmente el tejido conectivo fibroso; compuesto de una matriz extracelular que consta fundamentalmente de colágena, elastina y proteoglicanos; la porción celular se compone de músculo liso, fibroblastos, epitelio, y vasos sanguíneos. La proporción relativa de músculo liso en el tejido conectivo no es uniforme a lo largo del cérvix; es decir la porción distal contiene mayor proporción de músculo liso en el tejido conectivo que la parte superior del cérvix más cercana al miometrio. El proceso de remodelación que experimenta el cérvix se presenta desde el inicio de la gestación hasta el período posterior al parto.

La remodelación del cérvix es un proceso extremadamente complejo que involucra la participación de cascadas bioquímicas completamente sincronizadas, de la interacción entre los componentes celulares embebidos en la matriz extracelular, y de la infiltración de células inflamatorias hacia el estroma cervical tales como neutrófilos y macrófagos. El balance perfecto en la remodelación del cérvix permite al útero cumplir la compleja tarea de mantener un embarazo a término; y el posterior "proceso de destrucción del cérvix" a través del cual se dilata el tejido, facilita el paso del producto durante el parto. La reparación cervical posterior al parto permite que el tejido retorne a su estado de no gravidez a manera de que un próximo ciclo de embarazo pueda repetirse exitosamente. La falta de sincronía en estos procesos puede dar origen a un parto prematuro o conducir a un nacimiento post término.

Parte de la incapacidad en la comprensión completa de los mecanismos involucrados en el control de la gestación y del parto humano, es el conocimiento parcial que actualmente se tiene de las cascadas y procesos que afectan a los cambios necesarios a los que el cérvix humano debe someterse.

Estructura de la matriz extracelular del cérvix

El mayor componente de la matriz extracelular del cérvix es la colágena, principalmente colágenas tipo I (70%) y III (30%)⁶, la característica helicoidal que la proteína presenta en su estado nativo, produce una proteína rígida, fundamentalmente no elástica, lo que aunado a la proporción en los tipos de colágena le confiere la fuerza y rigidez característicos del tejido cervical.

Cuando se organiza la triple hélice de la proteína, ésta puede entrelazarse en fibrillas, fibras, y cordones. El tamaño de las fibras de colágena debe tener un mínimo de 20 μm de longitud para mantener la resistencia a la tracción⁷, y el proceso de entrecruzamiento posterior entre las fibras aumenta la fuerza ténsil de la colágena.

La enzima encargada de generar los entrecruzamientos en la colágena es la peptidil lisina oxidasa. Esta enzima utiliza dos diferentes cofactores, el cobre y la vitamina C; cuya deficiencia se relaciona con anomalías en la resistencia del tejido conectivo. La forma entrecruzada de la colágena le confiere cierta protección a la proteína porque la hace menos accesible a las colagenasas y proteasas capaces de degradarlas. En el cérvix humano, el proceso de remodelación al parecer es causado primordialmente por las colagenasas.

Otra molécula importante involucrada aparentemente con la estructura de la colágena en el cérvix humano es la decorina, un proteoglicano de bajo peso molecular⁸. Durante el embarazo humano, las células cervicales secretan decorina, un pequeño dermatán sulfato que al encontrarse en concentraciones

similares a las de colágena recubre las fibrillas de ésta. Hacia el final del embarazo y durante el trabajo de parto, los niveles de decorina aumentan con relación a la colágena lo que probablemente es causa de la dispersión de las fibrillas de colágena y conduce a la desorganización de las fibras de colágena^{9, 10}.

En el cérvix de mujeres no embarazadas, la colágena se encuentra densamente empaquetada y de forma irregular. Sin embargo, una vez que se inicia el embarazo, la colágena es sintetizada activamente¹¹ y se remodela continuamente de forma precisa por las colagenasas secretadas tanto por las células cervicales, así como por los neutrófilos^{12, 13}. La colágena puede ser degradada por las colagenasas tanto intracelularmente, para eliminar la procolágena defectuosa estructuralmente y así evitar la formación de fibras de colágena débiles, como extracelularmente, para debilitar lentamente la matriz de colágena (durante la llamada apertura o maduración) evento que permite el nacimiento.

Hacia el final del primer trimestre de embarazo, los cordones de colágena se encuentran menos empaquetados. Esto se traduce en una disminución global de la concentración de colágena. Sin embargo, con las células de músculo liso y tejido elástico, las fibras de colágena se alinean en una dirección definida de forma paralela una sobre otra. De este modo, el cérvix se sentirá más suave que en el cérvix de mujer no embarazada, pero está capacitado para mantener el embarazo en el útero.

Conforme se acerca más el término del embarazo, existe nuevamente una disminución en la concentración de colágena total¹⁴. La concentración de colágena disminuye aparentemente como una relativa "dilución" de colágena que se dispersa y que es remodelada en fibras más finas. La dispersión de la colágena al parecer se debe por el aumento en la proporción de decorina respecto a la concentración de colágena. Debido a que las fibras se dispersan, la concentración de agua aumenta a medida que la concentración de ácido hialurónico incrementa. Este último es secretado por los fibroblastos¹⁵ y tiene una alta afinidad por las

moléculas de agua. La disminución en la concentración de colágena se hace clínicamente evidente en el cérvix "suave". Algunas anomalías asociadas con cambios en la dispersión de colágena pueden ocurrir durante las fases tempranas del embarazo y en consecuencia en condiciones patológicas tales como la incompetencia de cérvix.

A medida que se dispersa la colágena, se ha documentado que existe un aumento en el metabolismo asociado con la actividad de colagenasas, esto probablemente debido a la infiltración de macrófagos y neutrófilos hacia el cérvix. Estas células son una fuente importante de proteasas, colagenasas, y elastasas^{16, 17}. Por otra parte, los fibroblastos y las células del músculo liso también contribuyen al aumento de enzimas degradativas, las cuales son estimuladas por el ácido hialurónico¹⁸. Cuando el trabajo de parto inicia, existen cambios significativos en los niveles de ácido hialurónico, citocinas (interleucina-1 β y la interleucina-8), y colagenasas que provocan aún más la degradación de la colágena cervical. Esta compleja interacción permite que el cérvix se relaje y se prepare para la dilatación.

Componente elástico de la matriz extracelular del cérvix.

Además de la colágena, otro de los componentes importantes de la matriz extracelular del cérvix humano es la elastina. Las fibras de elastina se organizan de forma paralela y se mezclan entre las fibras de colágena, ensamblándose en una banda de 20 a 30 μm de espesor¹⁹. Estas hojas delgadas son capaces de ser extendidas en cualquier dirección sin perder sus características. Con una tensión mecánica, la elastina puede estirarse al doble de su longitud lo que permite al cérvix que pueda dilatarse durante el parto. La importancia de este componente en el cérvix se documentó a partir de biopsias de pacientes con cérvix incompetente evidenciado clínicamente, la evaluación histológica reveló que existe tanto una disminución en la cantidad así como una arquitectura anormal de la elastina²⁰. Las fibras de elastina aparecen rotas y fragmentadas en comparación con

muestras de mujeres con embarazos a término que revelaron la orientación de elastina de forma similar a una banda.

Componente celular del cérvix

El componente celular del cérvix humano consiste de músculo liso y fibroblastos. En las primeras fases de la gestación, el cérvix se somete a una hiperplasia para que estas células proliferen y a medida que el embarazo avanza, ocurre una muerte celular fisiológica. Las células van desde una fase proliferativa a una fase de quiescencia en donde se produce la muerte celular, y que funciona como un mecanismo de regulación positiva para la decorina. La decorina a su vez, inhibe aún más la proliferación de las células, lo que representa el mayor aumento en los niveles de decorina, este proceso ayuda a dispersar las fibras de colágena. La desorganización de la colágena sumada a la afluencia de agua hacia el tejido favorece el aumento en la capacidad del cérvix para ser extendido²¹.

La regulación de la muerte celular puede ser afectada por múltiples vías, incluida la de las hormonas y citocinas. El patrón de la muerte celular fisiológica al parecer es controlado con precisión durante las distintas fases de la remodelación del cérvix. La onapristona, una antiprogestina, no sólo provoca alteraciones en la matriz extracelular, causadas probablemente por un aumento en la decorina, sino también inhibe el proceso normal de proliferación celular y afecta a la muerte celular. La muerte celular fisiológica induce la invasión hacia el estroma cervical de neutrófilos y macrófagos. A su vez estas células liberan elastasas y colagenasas, que interactúan con las colagenasas y elastasas secretadas por las células del estroma cervical, para posiblemente afectar a la remodelación del cérvix.

Elementos que afectan la maduración cervical

Aún no se conoce el momento exacto ni la mayoría de los procesos involucrados en la maduración cervical, proceso que permite la dilatación y apertura del cérvix durante la fase de parto. Algunos factores que al parecer están implicados en este proceso incluyen a la decorina, ácido hialurónico, hormonas, citocinas y proteasas. En conjunto, todos ellos son responsables de aumentar el contenido de agua en el cuello uterino, disminuyendo la concentración de colágena, y cambiando la organización de la misma.

Como se mencionó anteriormente la decorina se une a la superficie de las fibrillas de colágena, y la proporción de decorina con respecto a la colágena se correlaciona en forma inversa con la relajación del cérvix. Cuando las células del cérvix entran en muerte celular fisiológica, la proporción de decorina aumenta con respecto a la concentración de colágena, lo que ocasiona una ruptura o dispersión de las fibras de colágena.

El segundo mecanismo al parecer responsable del borramiento y dilatación del cérvix implica la participación de degradación enzimática de la matriz extracelular, en este caso las colagenasas, metaloproteinasas de la matriz (MMP) quienes rompen la triple hélice de la colágena, y elastasas. Los niveles de elastasas y metaloproteinasas en el tejido cervical podrían elevarse como consecuencia del aumento en la secreción de enzimas por parte de las células; algunas de las probables causas que inducen esto último son la apoptosis, el aumento de ácido hialurónico y posiblemente, los cambios hormonales.

La actividad de las MMP es regulada por sus inhibidores tisulares (TIMPs 1-4) y por la alfa 2 macroglobulina, mismos que han sido localizados en el cérvix durante el embarazo y al parecer el proceso de remodelación del tejido cervical depende del balance entre la biosíntesis y la degradación de la colágena. Al final del embarazo la relación de las metaloproteasas y sus inhibidores pierde ese

equilibrio y la balanza se inclina hacia una mayor actividad enzimática para permitir la degradación de la colágena de la matriz²².

Las citocinas, como la interleucina-1 β y la interleucina-8, inducen el aumento de la actividad de las colagenasas. En procesos inflamatorios, se ha documentado que la interleucina-1 β puede inducir la expresión de MMPs, disminuir la expresión de sus inhibidores de MMP, así como inhibir la síntesis de matriz extracelular. En el cérvix, los niveles de interleucina-1 β y de interleucina-8 aumentan durante la fase de trabajo de parto, y al parecer la primera estimula tanto la producción de interleucina-8 como la liberación de elastasas y colagenasas por los fibroblastos cervicales. La interleucina-8 también parece ser un potente quimiotáctico de neutrófilos y activador del factor 27 que puede estimular la extravasación y degranulación de neutrófilos²³.

El ácido hialurónico también estimula la síntesis de enzimas proteolíticas por los leucocitos humanos semejante a IL-1 β ²⁴. Los niveles de ácido hialurónico aumentan con la maduración cervical siendo mayor durante el parto, retornando a niveles basales inmediatamente después del parto. El ácido hialurónico es producido por los fibroblastos y es estimulado por diversos agentes, como la interleucina-1 y prostaglandinas. El ácido hialurónico juega un papel importante en el aumento del contenido de agua del cuello uterino a término, lo que lleva a una relajación y dispersión de las fibras de colágena. Así mismo participa durante la neo vascularización, proceso observado durante la maduración cervical, así mismo incrementa la respuesta quimiotáctica de los neutrófilos²⁵.

Las hormonas también participan durante la maduración cervical, debido a que el cérvix presenta receptores a estrógenos y progesterona. Los estrógenos y sus precursores estimulan la producción de colagenasas y la progesterona mantiene los niveles altos de enzimas que degradan el ácido hialurónico e interviene inhibiendo a los tejidos del cérvix en la producción de interleucina-8. Por lo tanto, como el efecto de la progesterona disminuye hacia el final del embarazo, los

niveles de interleucina-8 pueden aumentar de manera acorde con el ácido hialurónico. Por otra parte, cérvix tratados con antiprogestinas (agentes conocidos para inducir la maduración cervical) muestran un aumento de ácido hialurónico y en los niveles de decorina en el cuello uterino.

Finalmente, la maduración cervical es un proceso crónico, que comienza desde el primer trimestre del embarazo y que avanza progresivamente hasta el parto, se divide en tres fases denominadas relajación, borramiento (adelgazamiento), y la dilatación del cuello uterino. (Estos dos últimos son eventos agudos, e indispensables para que se lleve a cabo el nacimiento). Los tres diferentes eventos son indispensables para la preparación del tejido y deben ocurrir en secuencia. La relajación se considera que es un proceso vital porque las fases de borramiento y dilatación no pueden ocurrir sin que exista la remodelación del cérvix. El avance en el borramiento y la dilatación cervical a menudo se asocian con las contracciones uterinas, siendo evidente que la relajación se produce de forma independiente a las contracciones. Más aún, en casos patológicos como la incompetencia cervical, puede existir relajación y dilatación cervical, sin la presencia de contracciones uterinas.

La conjugación de la inactividad uterina con la cervical conduce a la culminación de un embarazo a buen término, debido a que el embarazo se mantiene por la ausencia de contracciones uterinas efectivas y por un cérvix competente fuertemente cerrado. La presencia de contracciones efectivas ante un cérvix rígido es incapaz de provocar el parto, contrario a lo sucedido en la patología denominada incompetencia cervical caracterizada por la incapacidad del cérvix de retener al feto, y puede llevar a nacimiento pretérmino aún en ausencia de contracciones uterinas. Así, los cambios apropiados y oportunos en la función cervical durante la gestación son cruciales para la culminación a tiempo del embarazo.

MEMBRANAS FETALES

El tercer tejido participante durante el parto son las membranas fetales, también denominadas membranas corioamnióticas; nombre que recibe el saco membranal, que contiene al producto dentro del líquido amniótico.

Lleva a cabo diversas funciones ya que interviene en el mantenimiento de la homeostasis fetal; representa una interfase altamente especializada entre la madre y el feto, además de proveer junto con el líquido amniótico de protección mecánica, aislando al producto durante el período gestacional, y generando así ese microambiente de esterilidad por su función de barrera protectora en donde protege al feto contra las diversas infecciones ascendentes del tracto genitourinario materno.²⁶

A grandes rasgos, la estructura de las membranas fetales se da por la adherencia de dos diferentes tejidos: amnios y corion, formando una unidad estructural y funcional. Ambos tejidos están constituidos de diferentes tipos celulares tales como células epiteliales, inmunológicas y de trofoblastos, embebidos en una matriz extracelular en donde el mayor constituyente es la colágena²⁷. A lo largo del período gestacional, este tejido presenta una gran elasticidad, capaz de soportar la presión intramniótica así como los movimientos fetales, sin que se presente algún cambio físico estructural; sin embargo, una vez avanzado el trabajo de parto, se ha documentado que existe pérdida de esa fuerza ténsil, debido al aumento en la degradación de varios de los componentes de la matriz extracelular (principalmente de los diferentes tipos de colágenas), generando con ello la ruptura de membranas, este proceso es muy importante ya que antecede al nacimiento. En el evento de degradación de las membranas actúan tanto las MMPs como sus inhibidores, y se ha documentado que horas antes de que inicie el trabajo de parto comienza un aumento en la expresión de MMP-9, marcando su participación crucial en el evento del parto, es por esto que esta enzima ha sido considerada por algunos autores como un marcador bioquímico del evento de ruptura de membranas fetales.

Una de las funciones importantes de las membranas fetales durante el trabajo de parto, es la producción de PGs²⁸ intrauterinas; en respuesta a diversos estímulos como citocinas (IL-1b) o endotoxinas bacterianas.

PLACENTA Y FETO

Otros participantes, aunque no menos importantes en el trabajo de parto son la placenta y el feto, quienes secretan o inhiben la síntesis de sustancias u hormonas²⁹. Tales como progesterona; estrógenos; neuropéptidos (oxitocina, relaxina); hormona liberadora de corticotropina (CRH); así como los productos del estímulo al eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA), de donde proviene la señal de maduración que se postula que envía el feto para el comienzo del trabajo de parto.

Algunas moléculas participantes como las prostaglandinas (PGs)³⁰ principalmente la PGE₂, histamina, cortisol, progesterona y oxitocina³¹, interactúan con las citocinas secretadas ya sea por las células locales así como por las células inmunológicas que arriban al entorno, en clara respuesta inflamatoria, lo que genera toda una cascada de respuestas con múltiples efectos.

La acción de las PGs en el trabajo de parto se da por el aumento en la sensibilidad uterina a las prostaglandinas, la cual incrementa conforme avanza el período gestacional, y que se acompaña de aumento en la síntesis de metabolitos precursores de PGs considerado como uno de los principales promotores de la actividad uterina durante el trabajo de parto³².

En cuanto a la progesterona, una de las funciones que realiza durante el período gestacional es inhibir la actividad espontánea del miometrio, así mismo presenta actividad inmunosupresora y antiinflamatoria. Caso contrario a los estrógenos, de quienes se ha documentado que aproximadamente unas semanas antes del trabajo de parto, sus niveles comienzan a elevarse, mismos que se relacionan con el aumento de receptores a oxitocina³³.

Con base en lo anterior, la participación en forma sincrónica de los diferentes microambientes abarca tanto la activación del miometrio así como del tejido cervical y de las membranas fetales, todo en un proceso de preparación y/o maduración de los tejidos previo al nacimiento; la actividad uterina inducida por los distintos agentes uterotónicos, así como disminución en la concentración de progesterona y el aumento de prostaglandinas, permiten la secreción de segundos mensajeros que actúan en el proceso de maduración cervical, que incluye los cambios bioquímicos de la matriz del tejido conectivo fino cervical, mismos que generan el acortamiento y la dilatación del cérvix para inducir la relajación cervical; en tanto que en las membranas fetales, los modelos propuestos de maduración para la etapa final de la gestación, se relacionan con la actividad proteolítica aumentada que afecta la estructura de su matriz extracelular, debido a la degradación de los componentes de la matriz por las MMPs, así durante el alumbramiento, el tejido pierde su elasticidad, rompiéndose para permitir la salida del recién nacido.

FASES DEL TRABAJO DE PARTO

Funcionalmente, el trabajo de parto presenta tres fases, que permiten evaluar la evolución del parto: 1) fase preparatoria o de latencia.; 2) fase activa: que se subdivide en: fase de aceleración inicial, fase de máxima aceleración y fase de desaceleración, que termina con la dilatación completa, y 3) fase pélvica, que se corresponde con el periodo expulsivo. Figura 1.

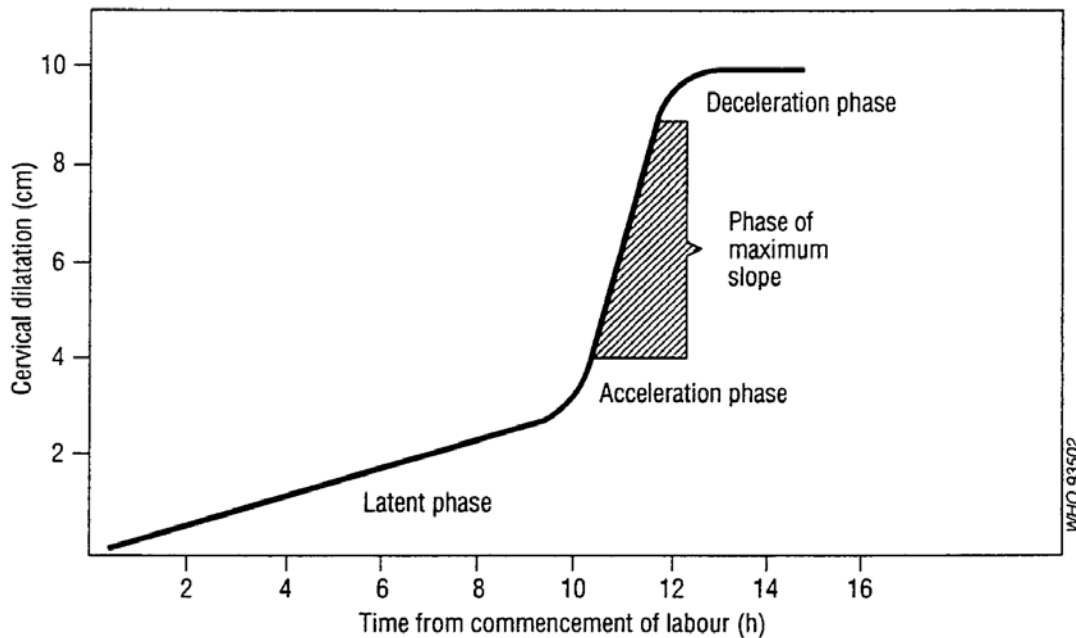


Figura 1: Fases del trabajo de parto. Tomada de OMS 1994³⁴.

1). Fase preparatoria o de latencia

Es llamado así el período que sirve para la preparación uterina para el parto, ocurre al final del embarazo y comprende desde el inicio de la actividad uterina regular, hasta que el cérvix presenta 3-4 cm de dilatación y se encuentra completamente borrado lo que marca el inicio de las contracciones del trabajo de parto. Los aspectos a destacar en este lapso es la relajación cervical, el aumento importante en el número de receptores para oxitocina a nivel de las células de miometrio, aumento sustancial en las uniones en puentes y el número de conexinas a nivel miometrial y por consiguiente una mayor sensibilidad a los agentes uterotónicos.

2). Fase activa

Lapso que representa el trabajo de parto activo, su inicio se marca cuando existen 3 cm de dilatación y las contracciones uterinas son aptas para producir un avance en el trabajo de parto; a su vez esta fase se divide en tres periodos:

Primer periodo. Se inicia cuando las contracciones uterinas alcanzan la frecuencia, intensidad y duración suficientes para causar borramiento y dilatación del cuello uterino, y finaliza cuando éste se encuentra en completa dilatación. El lapso de tiempo que dura es variable, pero se acepta como normal hasta diez horas en primigrávidas y ocho horas en multigrávidas; pero independientemente de esto, se debe considerar como adecuado si el borramiento y la dilatación cervical son progresivos e ininterrumpidos.

Segundo periodo. Se inicia con una dilatación cervical completa y termina con la expulsión del feto; tiene una duración variable, y tiene como característica que el evento es progresivo e ininterrumpido.

Tercer periodo. Este comienza inmediatamente finalizada la expulsión fetal y termina con la expulsión total de la placenta y las membranas corioamnióticas; a este periodo se le conoce también como de “alumbramiento” y es el más corto de todos.

Se postula que el proceso del nacimiento es tiempo-dependiente y para que se lleve a cabo es indispensable la compleja coordinación de los tejidos participantes³⁵; secretando la oleada de señalizaciones bioquímicas durante el proceso, con el fin de inducir la activación y estimulación de los tejidos para que avance el trabajo de parto, y finalmente se culmine con el nacimiento. La interrelación entre los tejidos se esquematiza en la figura 2.

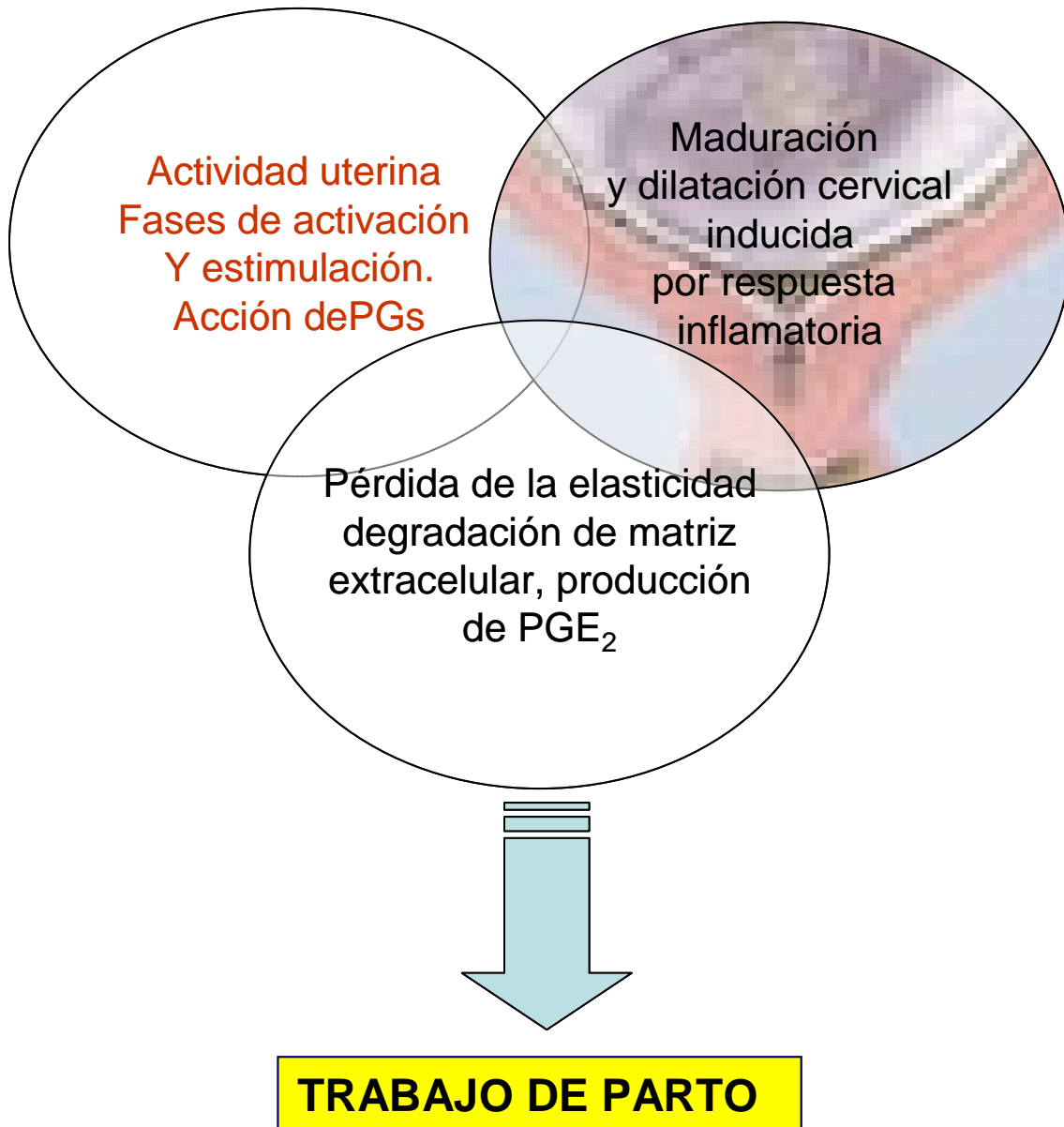


Figura 2. Microambientes participantes en el trabajo de parto. El útero, cérvix y membranas fetales, contribuyen en forma coordinada, a manera de retroalimentación positiva para inducir la activación y progresión del trabajo de parto.

Siguiendo el contexto de “normalidad” con el que se realiza el trabajo de parto, existen ciertas anormalidades del evento, mismas que representan uno de los mayores problemas de salud mundial, denominado “nacimiento pretérmino”. Patología que, a diferencia del evento fisiológico “normal”, en forma espontánea y bajo condiciones patológicas, induce la activación de los tejidos participantes en el

trabajo de parto, en edad gestacional menor a 37 semanas y su principal característica es que se realiza en total falta de sincronía.

Estudios previos sobre la etiología del nacimiento pretérmino nos conducen a aceptar que es un síndrome causado por múltiples patologías, en donde principalmente se pierde la sincronía presente en el trabajo de parto fisiológico antes de cumplir las 37 semanas de gestación. La Organización Mundial de la Salud define como pretérmino a todo aquel nacimiento de más de 20 y menos de 37 semanas de gestación³⁶. Su incidencia se marca en alrededor del 10% de todos los nacimientos siendo la explicación más aceptada para el 70% de las muertes neonatales a nivel mundial³⁷.

Se establece cuando antes de llegar a la edad gestacional mencionada anteriormente ocurre por lo menos alguno de los siguientes eventos: contracciones uterinas (6 o más en 1 hora); modificaciones cervicales (borramiento e inicio de dilatación en el orificio interno); pérdida sanguinolenta por vía vaginal o expulsión del tapón mucoso; originando tres de las diferentes patologías que conforman alrededor del 65% de los nacimientos pretérmino: trabajo de parto pretérmino (TPP), ruptura Prematura de membranas (RPM) e incompetencia cervical (IC), las que se definen de la siguiente manera:

- **Trabajo de parto pretérmino:** es la presencia de actividad uterina que va en aumento en intensidad, frecuencia y duración, de origen iatrogénico y que finalmente puede llegar a ser efectiva para inducir o no la activación del cérvix y membranas fetales en edad gestacional menor a 37 semanas.
- **Incompetencia cervical:** que es un acortamiento, y relajación del tejido conectivo fino del cérvix que lo hacen incapaz de sostener el feto, aún en ausencia de actividad uterina.

- **Ruptura prematura de membranas:** que se refiere a la salida de líquido amniótico transvaginal, por lo menos 2 horas antes de que inicie el trabajo de parto.

El análisis de cada una de estas patologías, nos conduce a aceptar que el inicio de actividad se realiza sólo específicamente en uno de los tres tejidos participantes durante el trabajo de parto fisiológico. Reafirmando que la actividad iniciada actúa con falta de sincronía e independientemente de los otros dos tejidos.

Este inicio en la actividad durante la patología del TPP a pesar de ser iniciado por múltiples causas, sólo puede originarse a través de dos vías de acción, la primera de ellas provocado por un desajuste en el mecanismo responsable de la quiescencia uterina controlada durante la mayor parte del período gestacional; y la segunda al generarse una sobre estimulación de alguno de los ejes más importantes en la cascada de activación del trabajo de parto normal.

Es importante destacar que, de manera semejante al evento fisiológico, esta patología presenta las fases de la actividad uterina, así como la maduración y dilatación cervical, indicando con ello que las únicas diferencias con el proceso fisiológico, es la edad gestacional en que se presenta, así como el motivo patológico que lo desencadenó. El mecanismo exacto aún no ha sido totalmente descrito; sin embargo, en los últimos años, se han llegado a detallar algunos de los eventos involucrados, como son, acción de prostaglandinas en las contracciones uterinas³⁸, degradación de matriz extracelular en el cérvix y membranas fetales³⁹, debido a la actividad proteolítica incrementada; sin dejar de mencionar la participación de la respuesta inmune, donde se activan principalmente los ejes de respuesta inmune, como es la respuesta proinflamatoria.

FACTORES DE RIESGO:

Sólo el veinte por ciento de los partos prematuros culminan por intervención obstétrica debido a indicación materna o fetal; sin embargo el 80% se da de forma espontánea después de un trabajo de parto prematuro, de una ruptura prematura de membranas, o de un sangrado vaginal. Muchos estudios se han dirigido a la búsqueda de herramientas de seguimiento para identificar a las mujeres riesgo elevado de desarrollar parto pretérmino espontáneo.

Existen factores de riesgo elevado asociados con el trabajo de parto y nacimiento pretérmino, tres de ellos son el haber culminado embarazos anteriores pretérmino, personas de raza negra y la gestación múltiple.

La historia clínica de partos pretérmino previos es el principal factor de riesgo en personas multíparas, con un riesgo relativo (RR) de 2.62% y un intervalo de confianza (IC) de 95%⁴⁰. Este factor de riesgo se eleva si la edad gestacional del nacimiento pretérmino previo disminuye o si la cantidad de partos prematuros previos aumenta⁴¹.

El sangrado vaginal durante el primer trimestre también ha sido relacionado con riesgo elevado tanto de presentar ruptura prematura de membranas (RR 15.1; IC 95%) como de desarrollar trabajo de parto pretérmino (RR 19.7; IC 95%)⁴². Y la presencia de hemorragia vaginal en edades gestacionales más avanzadas eleva el factor de riesgo a desarrollar nacimiento prematuro.

Otro de los factores que han sido asociados con un elevado riesgo a desarrollar trabajo de parto pretérmino es el abuso de sustancias tales como el tabaco, el alcohol, la cocaína. Una encuesta nacional sobre adicciones realizada en México encontró que las mujeres clasificadas dentro del síndrome de dependencia al alcohol tuvieron un riesgo significativamente elevado a desarrollar parto prematuro y de que los neonatos presentaran bajo peso al nacer (OR: 12,1; del 95% CI; 1.3-108.9)⁴³.

La edad materna es otro factor de riesgo. Y se asocia con la edad materna joven (menor a 20 años) y con la edad materna avanzada (mayor a 35 años).

La raza negra tiene un factor de riesgo más elevado en comparación de mujeres de raza blanca, algunas de las explicaciones proporcionadas a este hecho son el bajo nivel socioeconómico y de educación en las mujeres de raza negra y así como una prevalencia más alta de las mismas a sufrir vaginosis bacteriana⁴⁴.

Con la explosión en la tecnología de la reproducción a disposición de las parejas que sufren de infertilidad, el número de gestaciones múltiples ha aumentado de forma espectacular. En relación con este incremento ha llegado una proliferación de posibles enfermedades asociadas con las gestaciones múltiples, incluyendo el parto prematuro. El promedio de la edad gestacional en el momento del parto de gemelos es de 37 semanas, 33 semanas para los trillizos, y 31 semanas para embarazos cuádruples⁴⁵. Aproximadamente el 30-50% de las gestaciones múltiples culminan en parto pretérmino⁴⁶.

La detección temprana de las pacientes con riesgo a desarrollar trabajo de parto pretérmino es lo deseable para un manejo eficaz. Para ello se han documentado varios estudios tratando de identificar marcadores clínicos y bioquímicos del trabajo de parto normal y pretérmino asociados con pobres valores predictivos. El objetivo básico en la predicción del parto pretérmino es disponer de una intervención eficaz (ej. oportunidad de administrar inductores de madurez pulmonar fetal, la prolongación del embarazo mediante tocólisis o el traslado oportuno de la paciente de riesgo a un centro de atención especializada), para mejorar el resultado perinatal.

En los últimos años, ha sido posible relacionar la activación de la respuesta inflamatoria con el desencadenamiento de algunos de los procesos del trabajo de parto y el panorama fisiopatogénico que se acepta, involucra la actividad cruzada de las señales inflamatorias actuando sobre los tejidos reproductivos e induciendo

los cambios que conducen al nacimiento^{47, 48}. Los patrones de expresión de citocinas tanto por las membranas fetales como de la decidua, sugieren la presencia de activación en la respuesta inflamatoria durante el trabajo de parto normal, misma que se ha documentado como incrementada durante el nacimiento pretérmino⁴⁹, particularmente en presencia de infección intrauterina⁵⁰.

No está claro aún, si la activación de la ruta inflamatoria es una causa o una consecuencia del trabajo de parto, sin embargo se sabe que, al menos en el caso de una complicación del embarazo por presencia de infección intrauterina, el reconocimiento de los agentes infecciosos es el evento que dispara la red de señalización inicial que culmina en la inducción del trabajo de parto^{51, 52}.

Para reforzar lo anterior, en los últimos años se ha evidenciado la participación, durante la fase inicial del trabajo de parto de los receptores tolloides (“toll-like”) localizados en células presentadoras de antígenos de las diferentes porciones del tracto reproductor, estos receptores permiten reconocer los patrones moleculares de los microorganismos invasores⁵³. Como primer consecuencia se desencadena la activación de células como los macrófagos, que aportan la primera oleada de señales de respuesta inmediata, y que consistente en moléculas ubicuas, pleiotrópicas que inducen un efecto en cascada, como la interleucina-1 beta (IL-1 β), interleucina 8 (IL-8) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)⁵⁴. Estas señales tienen por función general reclutar y activar células inmunológicas hacia el entorno en el que arribaron los microorganismos y por otro, inducir a las poblaciones locales de la coriodecidua y placenta, para amplificar la señal inicial y se activen los primeros cambios que inducen al trabajo de parto.

La activación de los mecanismos del trabajo de parto, de manera característica en estas circunstancias, se hace en una secuencia asincrónica o desordenada dando origen a las distintas condiciones clínicas resultantes de la activación diferencial de los tejidos reproductivos.

La inducción de la respuesta efectora de la inflamación en el microambiente materno/fetal, mediada por IL-1 β y TNF α se acompaña inmediatamente por la secreción de una segunda oleada de moléculas secundarias “efectoras” que derivan tanto de las células inmunológicas reclutadas, así como de las poblaciones celulares locales,⁵⁵. De esta manera, por ejemplo, la estimulación selectiva de los linfocitos CD4+ y de las células del corioamnios por estas señales, resulta en una expresión masiva y activación de MMPs, quienes se han postulado como responsables de la degradación de la matriz de las membranas fetales de modo asincrónico a otros eventos del trabajo de parto y que explica el cuadro clínico denominado ruptura prematura de membranas, en donde las membranas fetales pierden su estructura y elasticidad, dejando salir el líquido amniótico en ausencia de contracciones uterinas efectivas⁵⁶.

Otra versión de respuesta secundaria sería la activación preferencial o inicial de la síntesis de prostaglandinas por células del amnios y de la decidua, lo que incrementaría la concentración local de PGE₂ y PGF_{2 α} , mismas que al difundirse hacia el miometrio, terminarían induciendo las contracciones uterinas; dando como resultado la manifestación fundamental de la amenaza de parto pretérmino.

Por otro lado, la homeostasis del organismo indica que al existir una activación de las cascadas efectoras también se induce la activación de los mecanismos reguladores de la respuesta inflamatoria y a pesar de que se ignora aún el mecanismo de control para este proceso, específicamente en el ambiente de los tejidos reproductores, la secreción de señales como respuesta a la primera oleada tenderían a regular la extensión y temporalidad de la respuesta inflamatoria. Dentro de este tipo de respuesta se incluyen señales como el antagonista del receptor de IL-1 (IL-1RA) y la interleucina 10 (IL-10). El papel principal de estas moléculas es controlar el tono de la respuesta de una manera dinámica, ajustándose a las necesidades locales para responder a la invasión sin hacer demasiado daño a los tejidos.

Estos eventos y sus mediadores han sido objeto de estudio durante la última década y así diferentes autores han propuesto la evaluación de algunas de estas moléculas para calcular el riesgo de presencia de infección intrauterina o el propio riesgo a desarrollar parto pretérmino. Dentro de las señales que más se han explorado se encuentra la interleucina 6, como una molécula amplificadora de la respuesta inicial; ya que durante la fase temprana de inflamación, actúa activando y madurando neutrófilos, madurando macrófagos y promoviendo la diferenciación de las células asesinas naturales (“natural killer”), todas ellas células blancas que invaden el tejido cervical y endometrial antes del trabajo de parto y que contribuyen al progreso del mismo⁵⁷; como ejemplo de señales de naturaleza secundaria destaca la fibronectina fetal, una glicoproteína que se encuentra en la matriz extracelular de las membranas fetales, decidua y líquido amniótico. Su función principal es de adhesión entre los tejidos embrionarios y la superficie uterina. La presencia de esta proteína en fluidos cervicovaginales es poco frecuente después de la semana 20 de gestación (ocurre sólo en un porcentaje menor a 10%) y es raro después de las 24 semanas, el hallazgo en las secreciones cervicovaginales de edades posteriores a ésta última, podría estar indicando un desprendimiento entre las membranas fetales y la decidua, es por ello que constituye el mejor marcador disponible de pronóstico de parto^{58, 59}.

Las modificaciones documentadas en el cuello uterino y las membranas fetales durante el trabajo de parto pretérmino; reflejan cambios bioquímicos extensos, que han sido caracterizados como resultado de la remodelación de la matriz extracelular en estos tejidos⁶⁰. Dado que la degradación se da principalmente en las fibras de colágena y en los glucosaminoglicanos, se ha implicado la participación de MMPs durante el evento de trabajo de parto normal y pretérmino, postulándose la intervención de la MMP-1, MMP-3, y principalmente las gelatinasas MMP-2 y MMP-9. De igual manera se ha sugerido que durante este proceso de modificaciones existe la participación de una respuesta inflamatoria^{61, 62}.

Debido a que la patología del trabajo de parto pretérmino es un problema de salud pública mundial y a la falta de conocimiento que la explique, la búsqueda de marcadores que definan la susceptibilidad a padecerla se hace indispensable. Un primer acercamiento sería comprender el proceso fisiológico en condiciones normales lo que permitirá equipararlo con la patología. Para ello, la propuesta en este trabajo fue construir una secuencia de evolución del trabajo de parto, delimitando los grupos de acuerdo a características específicas de las fases de activación miométrial conjugadas con las fases de remodelación cervical durante el trabajo de parto (Figura 3), con el fin de reconstruir la secuencia de progresión del trabajo de parto, resaltando que el proceso para llegar al nacimiento tanto normal como pretérmino es el mismo independientemente del origen. Por lo tanto, en cada uno de estos grupos, se detectaron, cuantificaron y analizaron algunas de las moléculas mencionadas anteriormente, con el fin de explorar su perfil de secreción durante el trabajo de parto independientemente del lugar de secreción; y englobando a los distintos microambientes que actúan en el momento. La decisión de una exploración amplia incluyó citocinas como moléculas de acción primaria o de regulación inmunológica (prostaglandina E₂, IL-1b, IL-8, TNF- α , IL-6, IL-1ra, IL10, IL-2, IL-4, IL-12p70 e INF γ); MMPs para explorar los posibles eventos desencadenados como secundarios a las primeras señales, y que estarían representando las modificaciones en cérvix y membranas fetales, en donde se incluyó a MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-12 y MMP-13, y finalmente la fibronectina oncofetal (fNT) relacionada con el daño a membranas fetales. Algunas ya documentadas como participantes del evento y otras con el fin de describir nuevos marcadores.

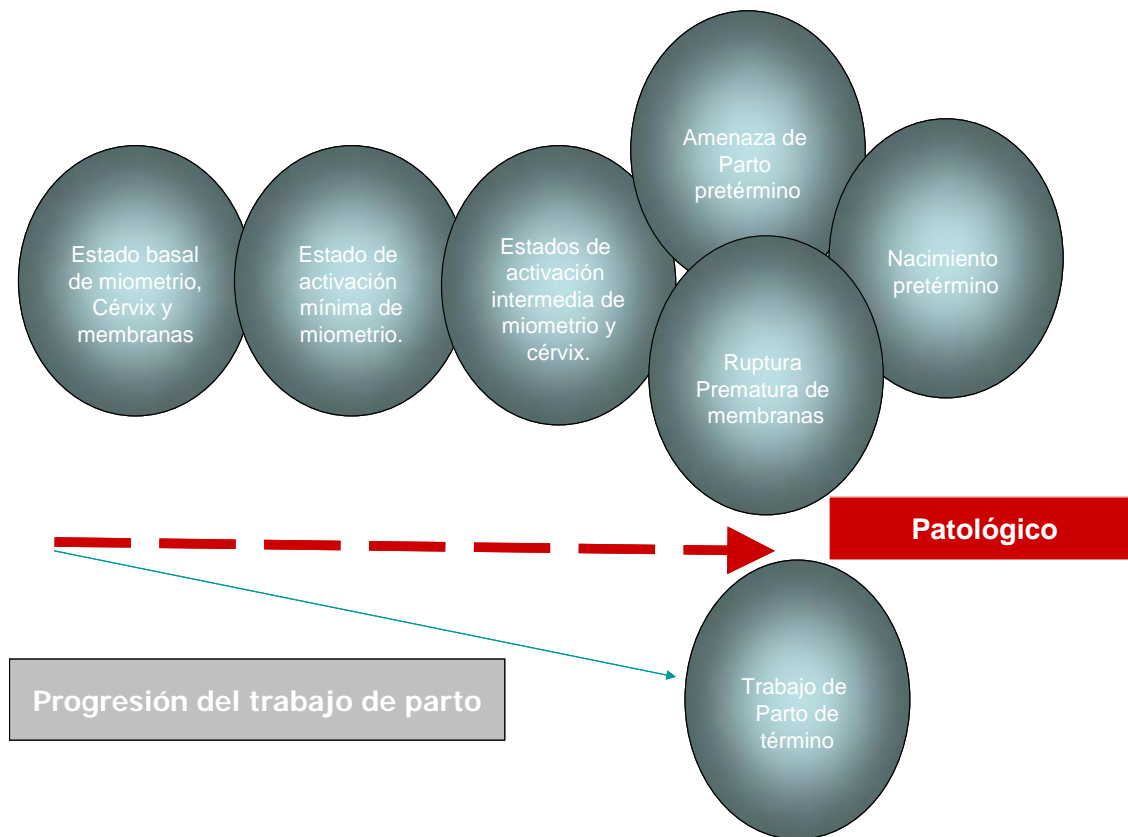


Figura 3: Secuencia esquemática de la progresión del trabajo de parto. Independientemente del origen de activación (normal o patológico), la evolución del trabajo de parto puede ser seccionada dentro de grupos o estadios conjugando la actividad miometrial con la fase de actividad cervical. Este esquema nos podría referir la presencia de variación en la secreción de moléculas biológicas indispensables para la inducción de la siguiente fase de activación.

HIPOTESIS

La secuencia de progresión del trabajo de parto puede ser documentada con la descripción de la secreción temporal hacia el exudado cervicovaginal de marcadores bioquímicos que forman parte de la red de señalización que coordina el trabajo de parto.

OBJETIVO GENERAL

Correlacionar la evolución clínica del trabajo de parto con el perfil de secreción de diferentes marcadores en muestras de exudado cervicovaginal.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Establecer una pseudocohorte de cuatro etapas consecutivas de evolución clínica del trabajo de parto normal y pretérmino.
- Evaluar la secreción de marcadores bioquímicos de activación del trabajo de parto presentes en el exudado cervicovaginal de las mujeres incluídas en la pseudocohorte.
- Correlacionar la concentración específica de cada uno de los marcadores bioquímicos con la etapa clínica del desarrollo de trabajo de parto y analizar los cambios longitudinales en su concentración al reconstruir la pseudocohorte para la progresión del trabajo de parto.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Diseño del estudio

- Tipo de investigación: Descriptivo.
- Características del estudio: Analítico y prospectivo

Población

Pacientes que acudieron a consulta de control prenatal y/o al servicio de urgencias en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes (INPerIER).

Criterios de inclusión. Se incluyeron todas aquellas pacientes que al momento de la toma de la muestra, cursaran con edad gestacional entre las 20 y 40 semanas y que pudieran ser clasificadas en los grupos que se describen adelante; sin complicaciones médicas u obstétricas mayores como diabetes mellitus, diabetes gestacional o infección de tracto genitourinario. Se solicitó por escrito su aceptación a participar en el protocolo de investigación.

Criterios de exclusión y eliminación. Se excluyeron pacientes con evidencia clínica de infección cervicovaginal y se eliminaron todas aquellas que resultaron positivas a infección luego de un cultivo microbiológico del exudado cervicovaginal. Mujeres con patología previa (diabetes mellitus, asma, artritis reumatoide, lupus eritematoso, hipertensión arterial, nefropatías). Mujeres con complicaciones obstétricas como malformaciones uterinas, placenta previa, preeclampsia, polihidramnios y oligohidramnios. Las pacientes que refirieron relaciones sexuales en las 24 h previas fueron excluidas.

La evaluación clínica de las pacientes fue realizado por los médicos especialistas que las atendían, y que fueron capacitados para la toma de muestra, así como del correcto vaciado del expediente clínico en la hoja expediente que acompañaba a cada muestra tomada (anexo 1).

MATERIAL Y METODOS.

Muestra de exudado cervicovaginal. Para la toma de la muestra se utilizó un sistema consistente en hisopo de dacrón estéril y tubo de transporte con 1 ml de amortiguador (Tris-base 0.05M, NaCl 0.15M, BSA 1%, Tween-20 al 0.1%). El hisopo se frotó en el fondo del saco vaginal asistido con espejo vaginal lubricado con solución salina, e inmediatamente después el hisopo se sumergió en la solución amortiguadora de extracción, almacenándose a 4°C, durante el transporte. El extracto del tubo se centrifugó a 2000 x g, a 4°C durante 15 minutos, para precipitar el material particulado y se colectó el sobrenadante, la muestra se conservó a -20°C, hasta su análisis.

Una vez tomada la muestra se elaboró una hoja expediente con la historia clínica materna para documentar la presencia de actividad uterina, modificaciones cervicales y estado fisiológico de las membranas, así como variables secundarias y confusoras necesarias para el análisis de los resultados. De acuerdo a la

información asentada en el expediente, las muestras fueron clasificadas en cualquiera de 5 estadios clínicos que reproducen (0-4) la secuencia del perfil de activación del trabajo de parto humano, y uno más en donde se incluyeron todas las muestras de pacientes que presentaron RPM antes de la toma de la muestra.

Integración de la pseudocohorte. Cada grupo de estudio fue integrado considerando las siguientes características:

- Estadio 0: muestras de pacientes con edades gestacionales entre 20 y 40 semanas, sin actividad uterina, sin cambios cervicales y con membranas fetales intactas. Este estadio representa la ausencia completa de trabajo de parto.
- Estadio 1: muestras de pacientes con irritación uterina mínima (definida por la paciente como eventos esporádicos de contracciones), sin cambios cervicales y membranas fetales intactas.
- Estadio 2: muestras de pacientes con irritación uterina mínima (≤ 1 evento/30 minutos) y cambios cervicales iniciales con dilatación menor a 2 cm, sin borramiento y membranas fetales intactas.
- Estadio 3: muestras de pacientes con actividad uterina irregular (≤ 2 eventos/30 min.), cambios cervicales intermedios (dilatación 1-3 cm) y membranas fetales intactas.
- Estadio 4: muestras con trabajo de parto avanzado, con contracciones uterinas efectivas y regulares, con cambios cervicales avanzados (dilatación >3 cm) y membranas fetales intactas.
- Estadio 5: muestras de pacientes, que previo a la toma de la muestra, hayan cursado con ruptura prematura de membranas. (RPM).

Determinación de Fibronectina fetal (fFN)

Se realizó con la técnica de detección rápida de fibronectina fetal (ADEZA) que consiste en colocar 200 μ l de muestra en un casete de flujo horizontal. La fibronectina fetal presente en el exudado, interactúa en principio con el anticuerpo

monoclonal anti-fibronectina fetal conjugado con microesferas azules, la muestra fluye por capilaridad a través de la membrana de nitrocelulosa, hasta la zona que se encuentra cubierta con anticuerpo policlonal anti-fibronectina fetal, el conjugado se fija en esa zona para finalmente dar como resultado la aparición de una banda en color azul.

El resultado del casete es analizado pasados 20 minutos de incubación con el sistema analizador TLIIQ (ADEZA Biochemical) diseñado especialmente para la detección de fibronectina fetal en secreciones cervicovaginales.

El analizador TLIIQ es un dispositivo electrónico de reflectancia óptica que convierte una reacción colorimétrica de un casete, en un formato digitalizado. Los datos se analizan mediante varios parámetros incluida una comparación de los datos de muestra con los datos de calibración. Para cada prueba de paciente el analizador proporciona uno de 3 resultados posibles: positivo, negativo o no válido. El resultado es positivo si la intensidad de la señal derivada de la muestra es mayor o igual al valor de calibración de referencia (50 pg/ml) especificado por el código de calibración, y negativo si la intensidad es menor.

Determinación de citocinas y MMPs. Para llevar a cabo la determinación de cada una de las proteínas propuestas, se probaron tres diferentes técnicas, antes de elegir la adecuada. La primera de ellas fue el inmunoensayo ELISA en fase sólida, que captura una proteína a través de un “sándwich” de anticuerpos específicos contra cada una de las moléculas de estudio en microplaca de 96 pozos (apéndice 1); la segunda técnica utilizada fue la detección a través de un microarreglo de fase sólida contra diferentes moléculas de manera simultánea (apéndice 2). Y la tercera fue el microarreglo proteómico para detección de moléculas en suspensión que utiliza la plataforma X-MAP de luminex (Bio-Plex de Bio-Rad, Hercules, Cal.).

El principio de esta última consiste en la conjugación de 2 técnicas, la primera de ellas es el ELISA donde se atrapa una proteína entre dos anticuerpos uno de captura adherido a una superficie sólida y otro de detección marcado con biotina, ambos anticuerpos específicos se unen mutuamente en sitios exclusivos de la proteína. La segunda técnica es la citometría de flujo, la cual puede separar y cuantificar células marcadas con fluorocromos, a partir de una mezcla. Las células son aspiradas y su separación se realiza al hacer incidir sobre cada una un laser, que determina ya sea tamaño, granularidad o si las células están marcadas, y con ello se realiza la detección, determinación y tamaño. Al combinar ambas técnicas se obtiene la tecnología X-MAP basada en el uso de una avanzada tecnología de microesferas, que lleva al desarrollo de un ensayo de citometría de flujo que permite la detección simultánea de 100 diferentes analitos en una sola muestra. Cada grupo de esferas presenta tonalidades idénticas para que una vez cubiertas con el anticuerpo monoclonal de captura puedan ser separadas al momento de la lectura. Para este proyecto se obtuvieron microesferas de 5.6 μm cubiertas con anticuerpos específicos, así como los anticuerpos de detección contra IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, INF γ y TNFa para el grupo de citocinas (BIO-RAD cat.# X500086CR4); y para el panel de MMPs contra MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-12 y MMP-13 (R&D, Systems, Minneapolis, MN). Siguiendo las recomendaciones de cada uno de los fabricantes (apéndice 3) se colocaron 50 μl /pozo de los estándares (curva con 8 puntos) y de las muestras (exudado cervicovaginal). El “software” del equipo, permite realizar el cálculo de las curvas mediante 7 métodos de regresión. El utilizado para este proyecto fue la regresión logística de 5 parámetros que toma en cuenta 1) estimado para concentración cero, 2) punto medio de la pendiente, 3) concentración media, 4) respuesta estimada a concentración infinita y 5) finalmente un factor de asimetría; es por ello que se requiere de mínimo 6 puntos para la curva, lo que garantiza los mejores resultados, así como rango de curva más amplio que una regresión lineal, (2-32000 pg/mL). Todos los resultados obtenidos para cada una de las moléculas se expresan en pg/mL.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los resultados se representaron en gráficos de cajas que marcan los percentiles 25-75, muestra además los percentiles 5-95, así como los valores dispersos representados por puntos fuera del rango. La concentración media en pg/mL para cada uno de los estadios, fueron analizados mediante una prueba de T para muestras independientes, aceptando las diferencias significativas si la $p \leq 0.05$.

Se realizó la comparación entre los 5 estadios que emulan la progresión del trabajo de parto, así como en las muestras con RPM. El análisis consistió en la comparación de cada uno de los estadios contra el estadio inmediato anterior.

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS DE LAS MUESTRAS

Se incluyeron en total 194 muestras, de acuerdo con los criterios de inclusión descritos previamente; 48 de ellas fueron agrupadas en el estadio 0; 22 en el estadio 1; 34 en el estadio 2; 43 en el estadio 3; 28 para el estadio 4, y finalmente 19 de las muestras fueron diagnosticadas previamente a la toma de la muestra con RPM, por lo tanto se agruparon dentro del estadio 5.

El perfil de avance en la activación del trabajo de parto, abarca del estadio 0 al estadio 4 siendo estos dos los extremos entre muestras sin evidencia de trabajo de parto y muestras con trabajo de parto activo. En este último se presenta la mayor actividad uterina así como los más extensos cambios en la estructura del tejido cervical. Las principales características de las muestras obtenidas para cada uno de los estadios quedan resumidas en la tabla 1.

Tabla 1.
Características generales de la población

	Estadio 0	Estadio 1	Estadio 2	Estadio 3	Estadio 4	Estadio 5
Total de muestras	48	22	34	43	28	19
Edad gestacional (SG)	27.01 ±6.21	28.0 ±8.15 p=0.278	31.5 ±4.8 p=0.815	33.3 ±3.8 p=0.937	37.07 ±6.7 p=0.607	37.3 ±5.8 p=0.699
Edad media materna	30.60 ±6.7	27.95 ±7.7 p=0.149	27.4 ±9.6 p=0.175	27.2 ±8.1 p=0.07	26.2 ±8.4 p=0.105	26.4 ±6.03 p=0.148
Gestas	2.52 ±1.4	2.68 ±1.6 p=0.674	2.51 ±1.7 p=0.699	2.41 ±1.5 p=0.769	2.1 ±1.4 p=0.411	2.32 ±2.1 p=0.647

*SG: Semanas de gestación

El resultado obtenido a partir de los análisis estadísticos entre los seis estadios no mostró diferencias significativas para ninguna de las variables descritas como son: edad materna, edad gestacional y en el número de gestas. Con base en lo anterior, se muestra la homogeneidad de los grupos en relación a las variables mencionadas, indispensable para el análisis de los resultados mostrados posteriormente.

CONCENTRACIÓN DE CITOCINAS DE AMBIENTE PROINFLAMATORIO EN EXUDADO CERVICOVAGINAL

Fue posible detectar todas las citocinas analizadas (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α , INF γ , IL-1Ra, IL-2, IL-4, IL-10, IL-12) en las muestras de exudado cervicovaginal.

El panel de citocinas analizado incluye a los diferentes grupos de citocinas que modulan la respuesta inflamatoria y que se asocian con el desarrollo del trabajo de parto. La propuesta de este trabajo es que algunas de ellas actuarían durante sus primeras fases y otras de manera tardía conformando diferentes perfiles.

Los resultados obtenidos para el grupo de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α) se muestran en la figura 4 (A, B, C, D).

IL-1 β : la secreción de esta citocina (Figura 4-A) mostró un aumento conforme se avanza en el trabajo de parto, principalmente hacia los estadios 3 y 4, en comparación con el estadio 0, ($p < 0.01$). Los valores obtenidos fueron (488.5 [154.2- 1375.7]) y (308.58 [182.6- 950.6]) para los estadios 3 y 4 respectivamente y (145.98 [40.65- 476.06]) para el estadio 0.

Entre los estadio 0 y 1 no se detectaron diferencias significativas, pero a partir de que se inicia la actividad uterina (estadio 1) fue posible detectar un aumento gradual hasta llegar al estadio 3. Estadio 1 (143.07 [37.84- 308.86]); estadio 2 (204.525 [81.73- 901.4425]); y estadio 3 (488.5 [154.2- 1375.735]) la diferencia fue significativa $p < 0.05$.

IL-6: En el caso de IL-6 (Figura 4-B), a pesar de ser detectable en la mayor parte de las muestras, la secreción observada de esta citocina durante el estadio 0 fue mínima. Aunque es posible observar incremento a partir de los primeros indicios de inicio de actividad uterina al hacer la comparación contra el estadio 0 todos presentan diferencia significativa en el aumento ($p < 0.01$). Sin embargo, el aumento en la secreción de la citocina fue mayor hacia el estadio 4 (165.68 [60.3- 501.3]), una vez que el trabajo se encuentra totalmente activo. Comparando el estadio 0 contra el estadio 4 el valor de $p = 0.000$ y la comparación del estadio 3 y 4 el valor de $p = 0.009$. Este aumento tan marcado hacia el estadio 4 fue similar al observado en muestras que presentan ruptura de membranas (Estadio 5).

TNF α : En este caso (Figura 4-C) se aprecia claramente un patrón que va en aumento conforme inicia la actividad uterina. Siendo mayor la concentración de la citocina en los estadios 3 y 4. ($p \leq 0.01$).

IL-8: La concentración de IL-8 (Figura 4-D), a pesar de ser detectada en concentraciones superiores a las otras moléculas analizadas, no presentó ningún cambio conforme avanza el trabajo de parto, detectándose un patrón de secreción basal en todos los estadios.

Perfil de secreción de citocinas proinflamatorias durante el progreso del trabajo de parto

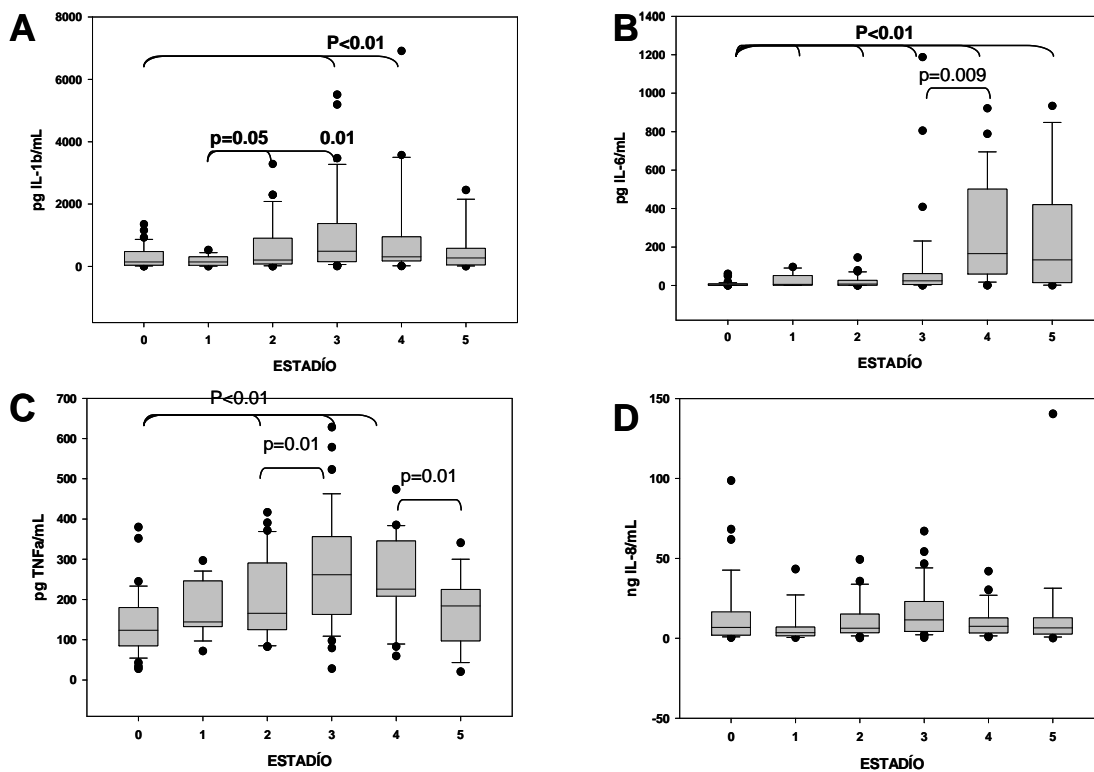


Figura 4: A) IL-1β, B) IL-6, C) TNFα y D) IL-8, durante el progreso de evolución del trabajo de parto. En los gráficos se representa la mediana dentro de los percentiles 25-75, las barras indican los percentiles 5-95. El eje Y corresponde a concentraciones de proteína en pg/m, y en X se muestran los 5 diferentes estadios de evolución del TP (de 0-4), así como el estadio 5 que corresponde a RPM. Se muestran los valores de $p \leq 0.05$ entre los grupos que presentan diferencias estadísticamente significativas. Los valores para $n = 48, 22, 34, 43, 28$ y 19 para cada uno de los estadios del 0 al 5 respectivamente.

Perfil de secreción de INF γ .

La secreción de INF γ muestra un ligero incremento conforme avanza el trabajo de parto, perceptible desde sus inicios hasta la fase activa en comparación con el estadio 0 sin trabajo de parto con un valor de significancia de $p < 0.01$. La única diferencia detectada conforme avanza el trabajo de parto fue al realizar la comparación del estadio 2 y 4. No existe aumento detectable en la secreción de INF γ en muestras que presentaron ruptura prematura de membrana comparado con el estadio 0.

PERFIL DE SECRECIÓN DE INF γ EN EXUDADO CERVICOVAGINAL

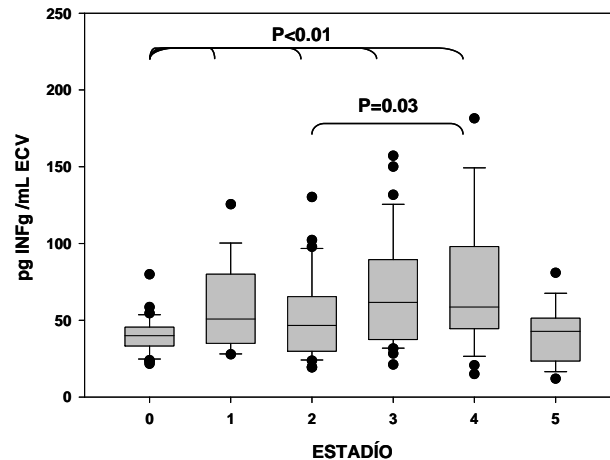


Figura 5. La secreción de INF γ hacia el exudado cervicovaginal, aumenta una vez que comienzan los primeros síntomas de actividad del trabajo de parto. En muestras con ruptura prematura de membranas (estadio 0) no se detecta aumento en la secreción.

La activación de la respuesta inflamatoria asociada al evento del trabajo de parto se acompaña siempre de la activación del proceso homeostático del organismo; lo que se refleja en la regulación del propio proceso inflamatorio, con secreción de citocinas antiinflamatorias, y que informan del progreso y control de éste proceso.

IL-1Ra: El antagonista del receptor de IL-1 (IL-1ra), fue detectado en la mayoría de los estadios, aunque en comparación con las demás citocinas, en los primeros estadios siempre se encontró fuera del límite superior de sensibilidad de detección de la técnica. Sin embargo, en etapas más avanzadas del trabajo de parto, la concentración de IL-1Ra disminuyó al grado de que las concentraciones determinadas se encontraban dentro del rango de sensibilidad de la técnica. Este hecho, condujo a buscar métodos alternos para rescatar los resultados obtenidos. Uno de ellos era determinar la proteína por otra técnica menos costosa como ELISA, que se difirió pues la entrega de los kits requería demasiado tiempo; por lo que se decidió seleccionar de manera arbitraria un punto de corte en la concentración de proteína detectada tomando en cuenta la linealidad del ensayo. Nuestro punto de corte fijado fue de 50,000 pg/ml; por lo tanto todo valor determinado por debajo de este punto se le asignó un valor negativo, así mismo cualquier resultado superior al punto o indetectable por el límite superior de sensibilidad se le asignó un valor positivo.

Finalmente los resultados obtenidos se muestran en la Figura 6, en donde claramente se percibe que conforme avanza el trabajo de parto, la concentración de IL-1Ra secretada hacia el exudado cervicovaginal (ECV), disminuye de forma progresiva ya que el porcentaje de muestras con valor negativo aumenta gradualmente conforme avanza el trabajo de parto. Esta misma relación de resultados negativos y positivos vista en el trabajo de parto activo, se observó en las muestras con RPM (estadio 5) la concentración secretada de IL-1Ra hacia el exudado cervicovaginal fue similar a la detectada en las muestras con trabajo de parto o estadio 4.

SECRECIÓN DE IL-1Ra EN EXUDADO CERVICOVAGINAL

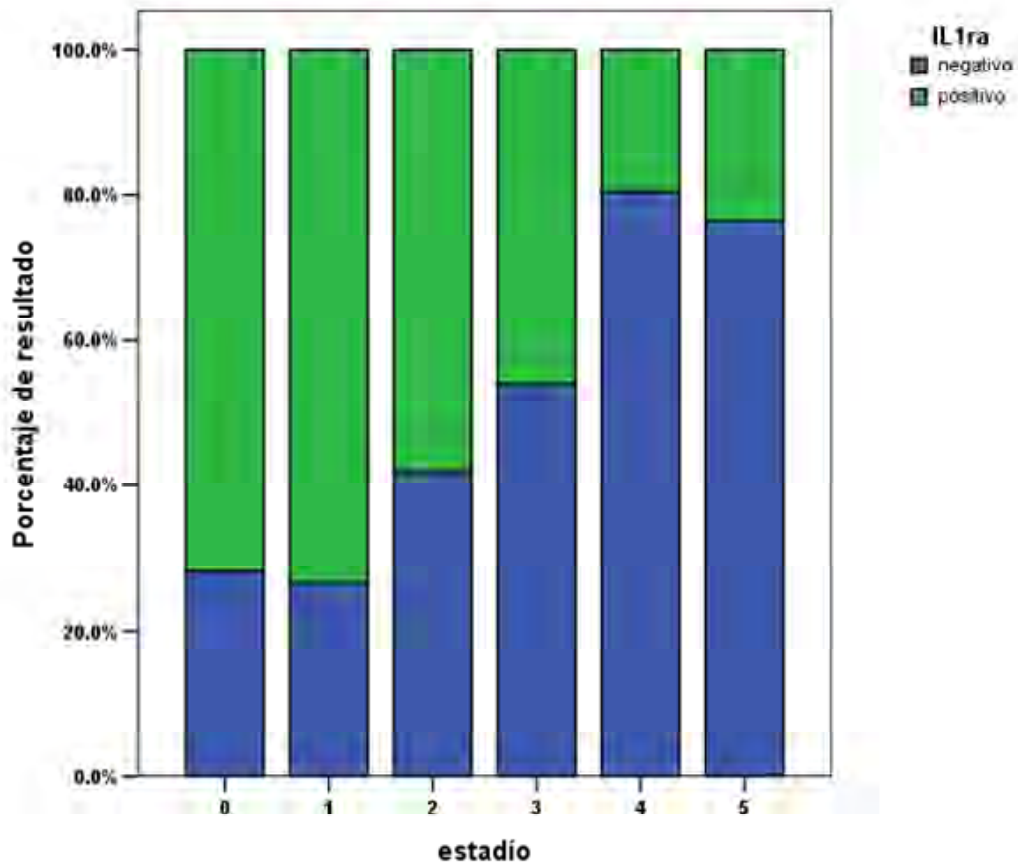


Figura 6. Secreción de IL-1Ra hacia el ECV. La gráfica representa los porcentajes del valor obtenido en las muestras para cada estadio.

El resto de las citocinas analizadas como son IL-2, IL-4, IL-12, pero principalmente IL-10 actúan dentro del ambiente regulatorio. Los resultados obtenidos para cada una de ellas se presentan en la figura 7 (A, B, C, D).

Perfil de secreción de citocinas durante el progreso del trabajo de parto.

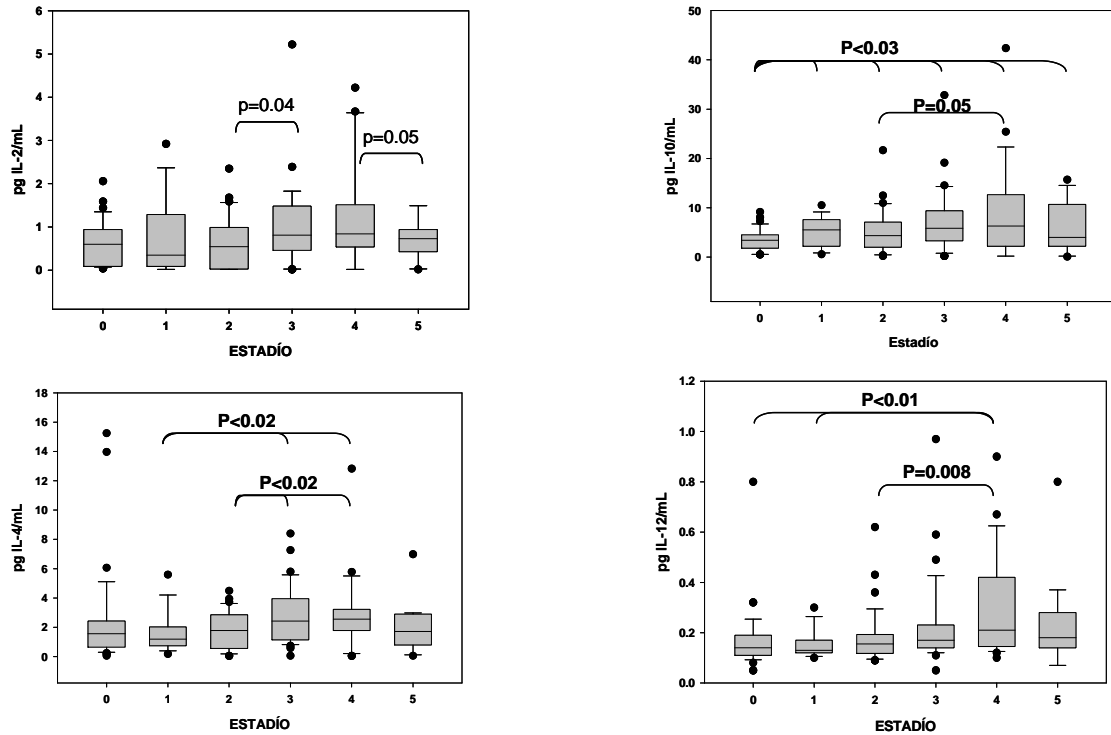


Figura 7. Secreción de citocinas reguladoras en ECV, durante la progresión del trabajo de parto. A) IL-4; B) IL-10; C) IL-12. A excepción de IL-2 en donde es menos perceptible, existe un patrón diferencial de secreción conforme avanza el trabajo de parto, que va en aumento hacia las etapas de mayor actividad.

Ahora bien, estos resultados vistos estarían actuando como moléculas primarias o inductoras si seguimos el contexto que se planteó en un principio. La respuesta posterior a esto sería la secundaria o “efectora” y que consiste de las moléculas que al recibir la señal comienzan a activar a otros tejidos o en su caso a ejercer su actividad enzimática. Dentro de esta respuesta agrupamos a la PGE2 y a las MMPs; la primera se ha ligado durante el trabajo de parto con las contracciones uterinas y las segundas con la degradación de la matriz extracelular de las membranas fetales y del cérvix.

Determinación de PGE2.

La secreción de PGE2 hacia el exudado, fue muy similar en cada uno de los estadios, percibiéndose un ligero incremento hacia el estadio 2 sin ser diferente significativamente. Como se puede observar en la figura 8, la mediana de la concentración detectada en los 6 estadios fue alrededor de 2400 pg/ml. Los valores de la mediana y los percentiles 25-75 para cada uno de los estadios fueron (2403.5 [1813.4-2904.7]); (2422.23 [2040.9-2783.55]); (2351.42 [2086.1-3448.4]); (2534.5 [2073.55-3225.9]); (2237.4 [1745.905-3075.2]) para los estadios 0 al estadio 4 respectivamente y en las muestras del estadio 5 fue de 2113.5 (1487.8-2790.2).

Perfil de secreción de PGE2 en exudado cervicovaginal conforme avanza el trabajo de parto

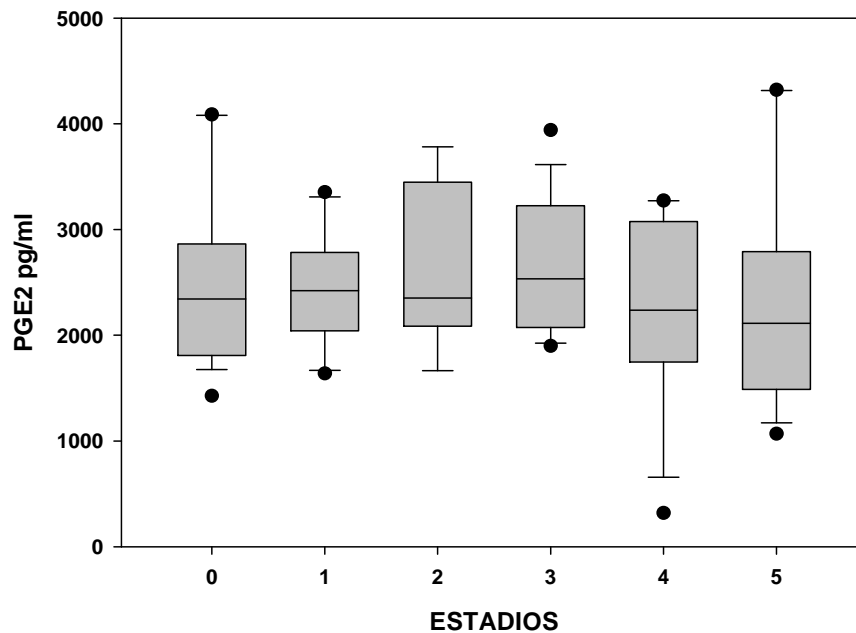


Figura 8. Secreción de PGE2 en pg/ml de exudado cervicovaginal conforme avanza el trabajo de parto. Las cajas representan los percentiles 25-75 y las barras los percentiles 5-95. La línea horizontal dentro de las cajas representa la mediana. No se detectaron diferencias significativas para ninguno de los estadios $p > 0.05$.

MMP: Las MMPs más ligadas al desarrollo del trabajo de parto han sido la MMP-2 y MMP-9 (figura 9, A y B). Nuestros resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) en la secreción de estas gelatinasas hacia el exudado cervicovaginal entre los diferentes estadios. Estas diferencias en el caso de MMP-2 se dan por el marcado aumento en la secreción hacia la etapa final o más avanzada (estadio 4), así como en la ruptura prematura de membranas (estadio 5), la mediana de MMP-2 detectada en estos dos estadios alrededor de 5,000 pg/mL comparada con el estadio 0 (mediana 20 pg/mL).

Al contrario la determinación de MMP-9 revela una ligera tendencia a disminuir inverso al progreso del trabajo de parto y un poco más marcado hacia la ruptura prematura de membranas; estadísticamente sólo se encontraron diferencias al comparar cada uno de los estadios del perfil de avance de trabajo de parto contra el estadio 5 que agrupa a la ruptura de membranas, manteniendo una mediana de alrededor de 40-50 pg/mL en el perfil de activación del trabajo de parto; y de 35 pg/mL durante la ruptura prematura de membranas.

PERFIL DE SECRECIÓN DE GELATINASAS HACIA EL EXUDADO CERVICOVAGINAL DURANTE EL TRABAJO DE PARTO

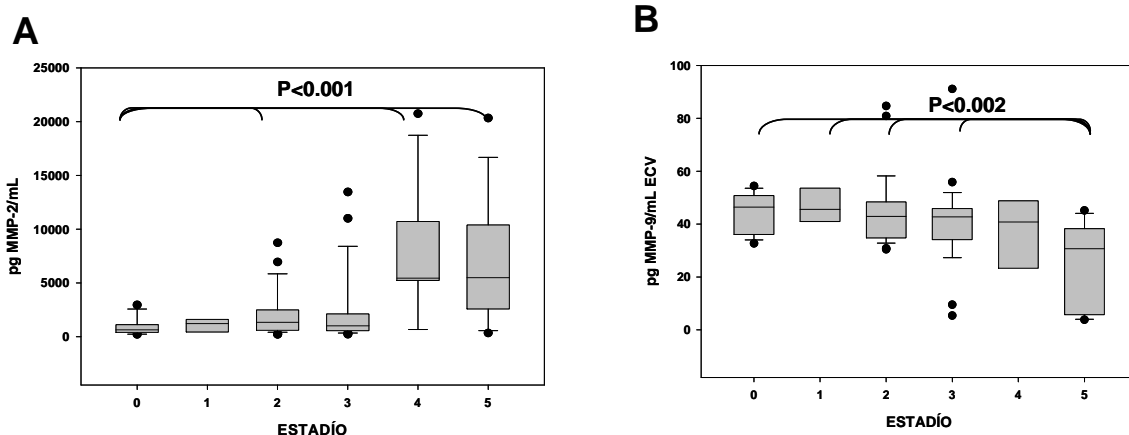


Figura 9. Perfil de secreción de gelatinasas hacia el exudado cervicovaginal durante el progreso del trabajo de parto. No se reportan diferencias significativas entre los diferentes estadios.

La participación en el trabajo de parto de las colagenasas MMP-1, MMP-8 y MMP-13, ha sido reportada debido a los distintos tipos de colágenas presentes en la matriz extracelular, principalmente de las membranas fetales y del cérvix. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 10 (A, B, C).

PERFIL DE SECRECIÓN DE COLAGENASAS EN EXUDADO CERVICOVAGINAL

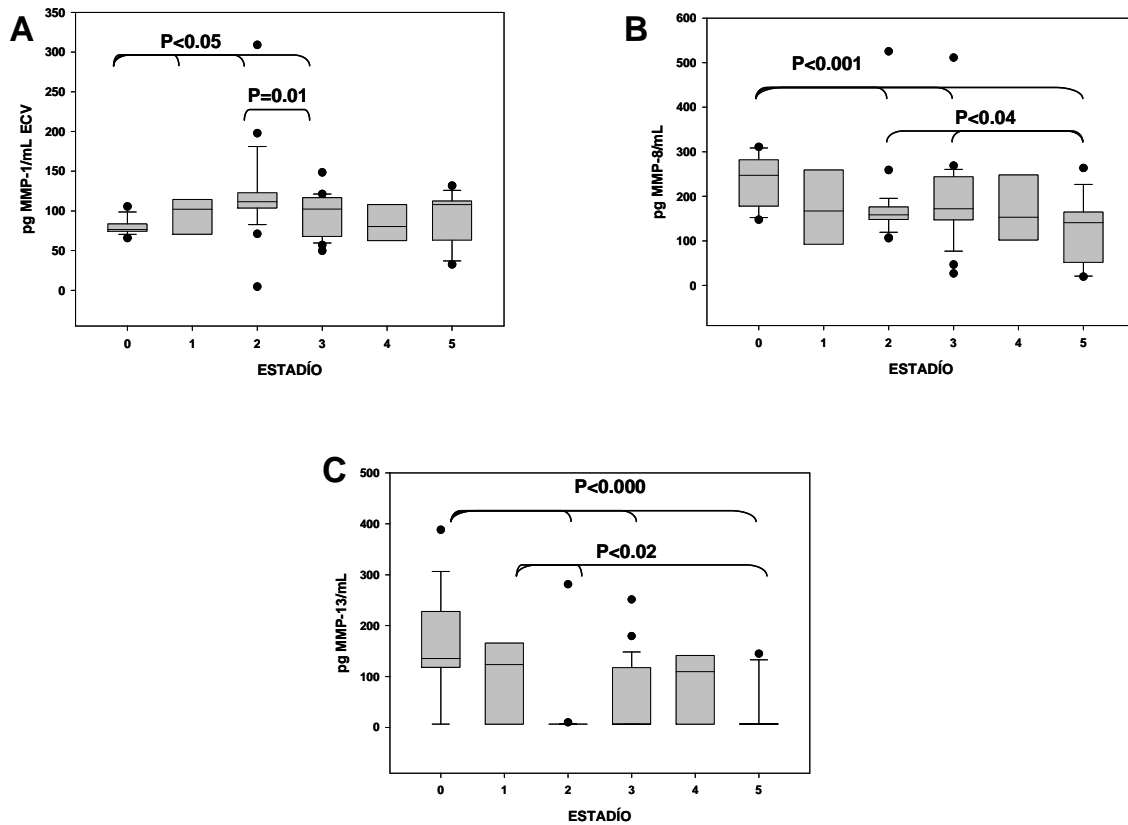


Figura 10. Secreción de colagenasas en exudado cervicovaginal. A) MMP-1; B) MMP-8 y C) MMP-13.

Como podemos observar para MMP-1 (figura 10-A) el aumento en la secreción inicia desde las primeras fases del trabajo de parto a pesar de ser mínimo, es estadísticamente diferente con respecto al estadio 0. En los estadios de trabajo de

parto activo y con ruptura de membranas no se encontraron diferencias contra los otros estadios.

Para MMP-8 y MMP-13 se detectó que va disminuyendo conforme avanza el perfil sin percibirse diferencias drásticas.

DETERMINACIÓN DE FIBRONECTINA FETAL. (fFN)

Como se puede observar en la Figura 11, conforme se establece el trabajo de parto activo, el porcentaje de muestras que dan resultado positivo a fibronectina va en aumento. Durante los primeros estadios (Estadio 0 al Estadio 2) el porcentaje de muestras con resultado negativo a fFN se determinó en alrededor del 78% y el restante 22% como positivo. A partir del estadio 3 comienza a invertirse esa proporción en los resultados, haciéndose evidente durante el estadio 4, al revertirse completamente los resultados. Cuando se declara un trabajo de parto activo y sumado con las modificaciones cervicales, el porcentaje de muestras con resultado positivo a fFN es mayor que el obtenido en los primeros estadios (90% positivo-10% negativo en estadio 4; 20% positivo-80% positivo en los estadios 0-2). Este aumento en el porcentaje de muestras positivas a fFN hacia las etapas de mayor actividad fue estadísticamente significativo ($p=0.0001$).

Los resultados a fFN (90% positivo-10% negativo) obtenidos en las muestras con ruptura prematura de membranas del estadio 5 fue similar al obtenido en trabajo de parto efectivo.

Perfil de liberación de fFN en exudado cervicovaginal.

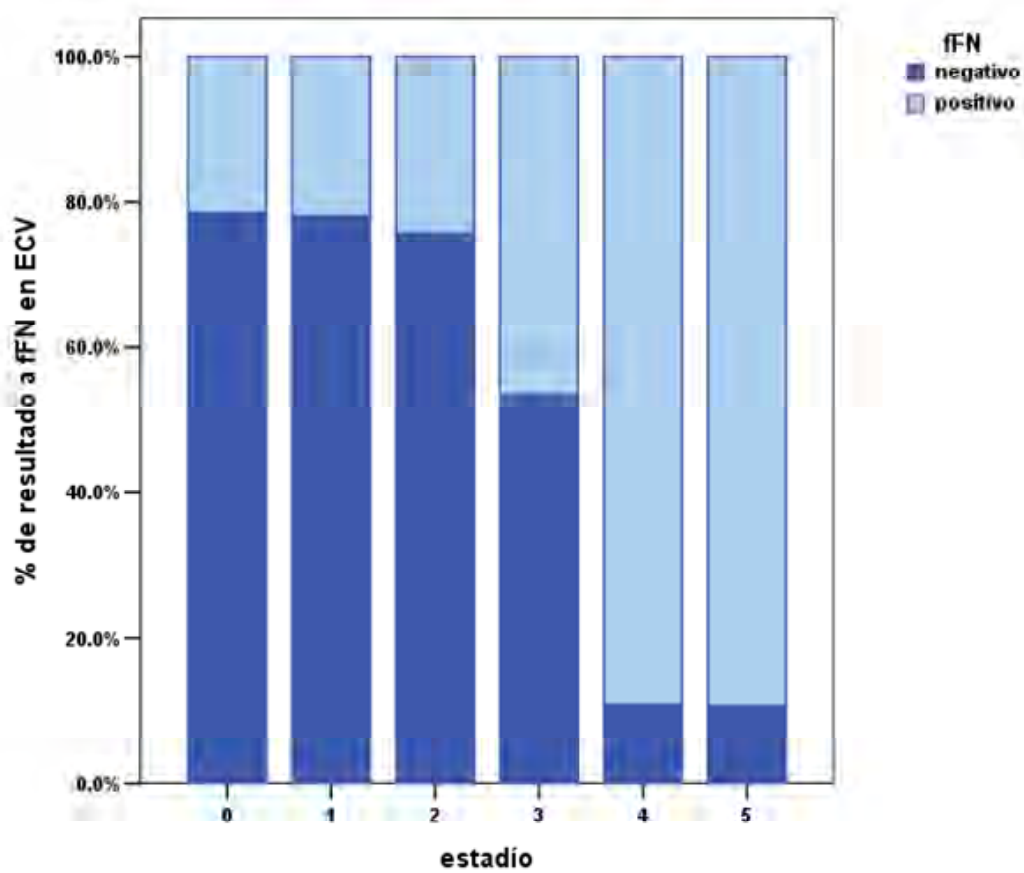
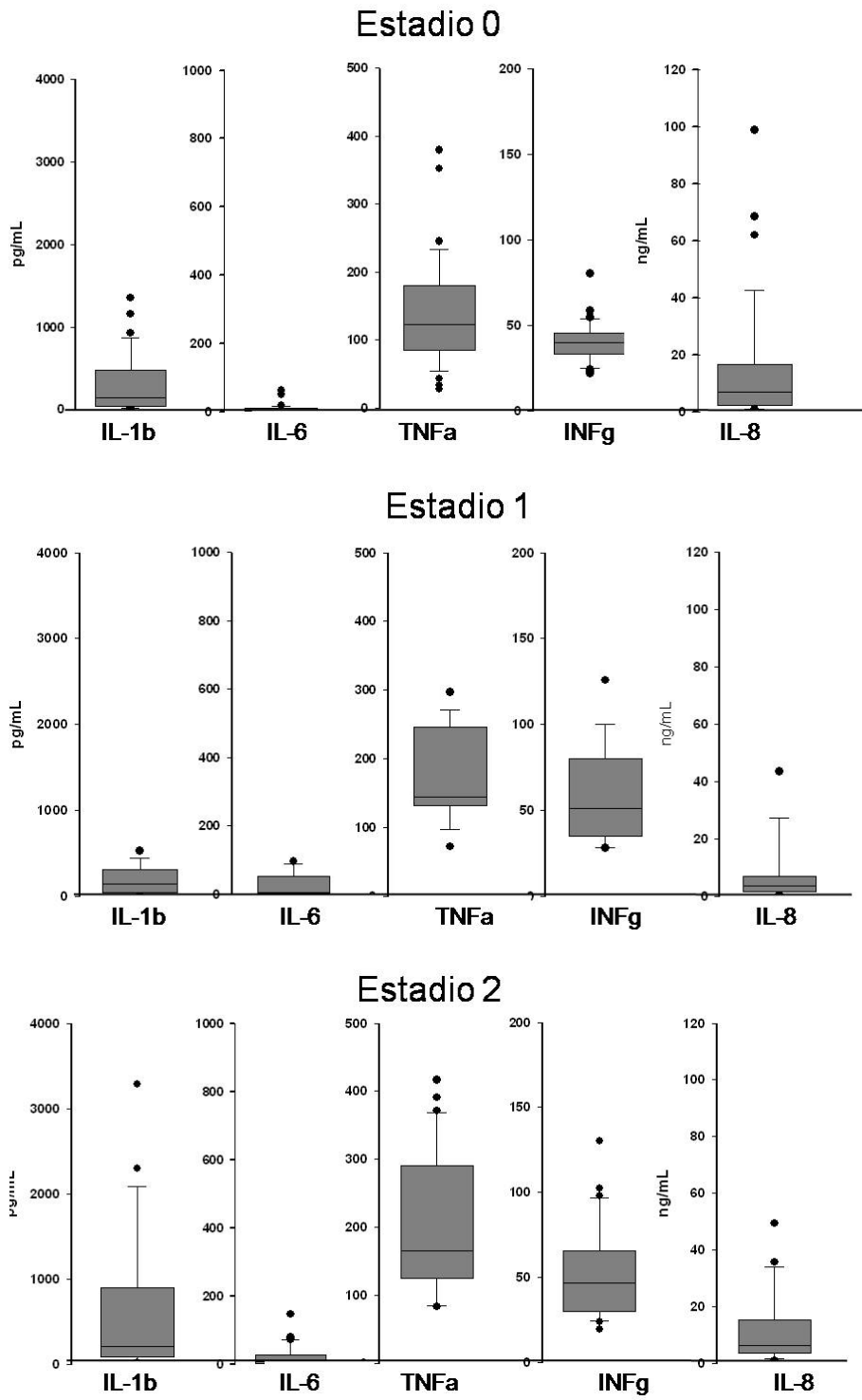


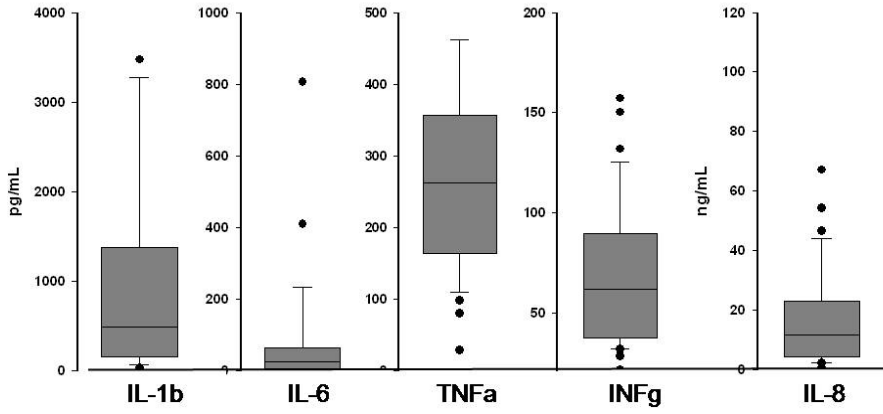
Figura 11. Porcentaje de secreción de fFN en exudado cervicovaginal durante el perfil de avance del trabajo de parto. Resultado de la prueba para fFN. El 100% representa al total de muestras analizadas para cada estadio. En los dos últimos estadios del progreso del trabajo de parto, se ve incrementado resultando un mayor porcentaje de muestras positivas a fFN, observándose algo similar entre los resultados obtenidos para un trabajo de parto efectivo y las muestras con ruptura prematura de membranas.

Agrupando los resultados de acuerdo a los perfiles quedan integrados de la siguiente forma:

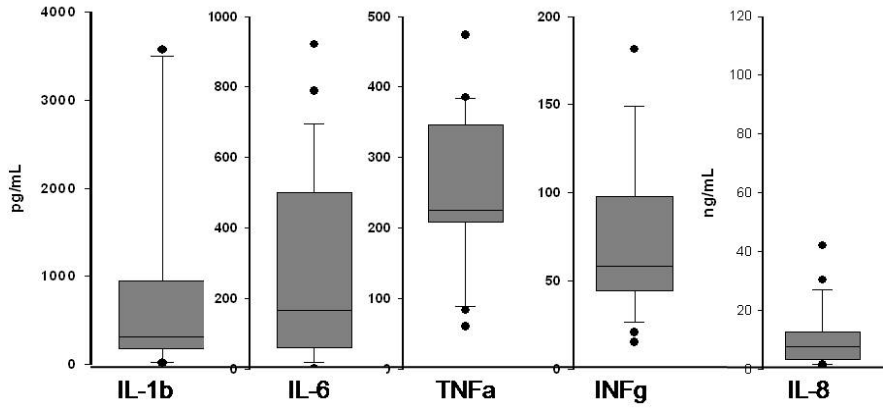
Perfil de citocinas proinflamatorias



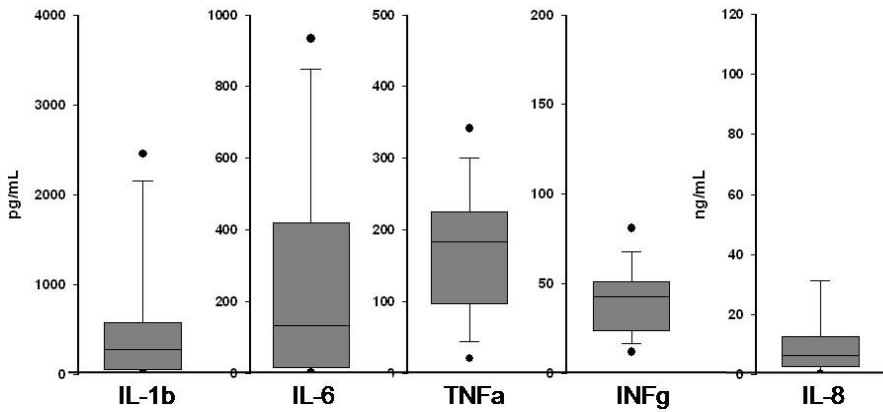
Estadio 3



Estadio 4

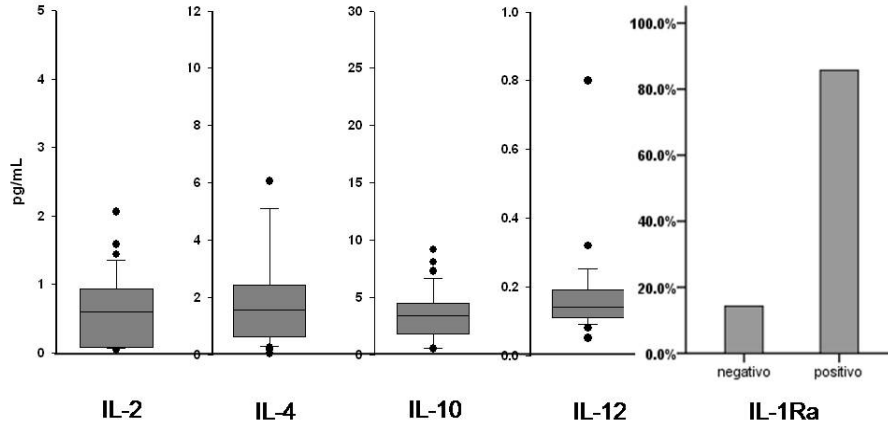


Estadio 5

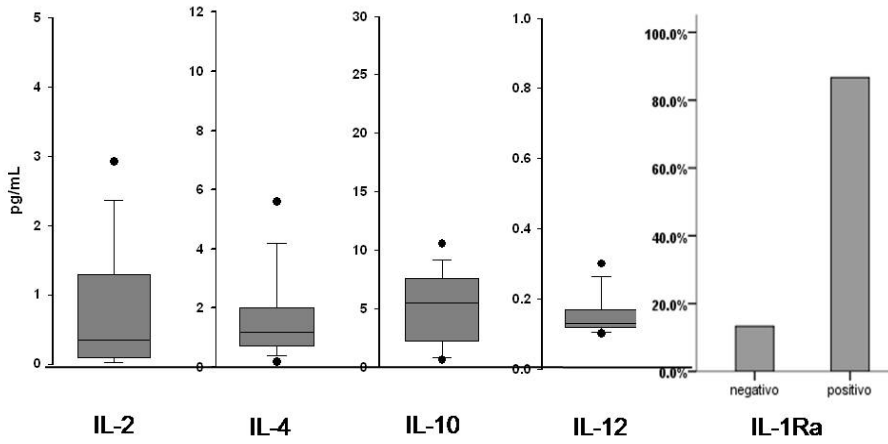


Perfil de citocinas reguladoras

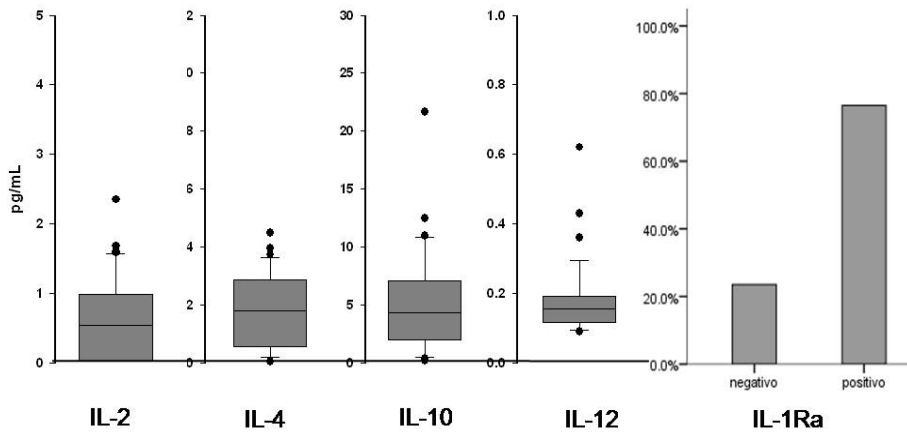
Estadio 0



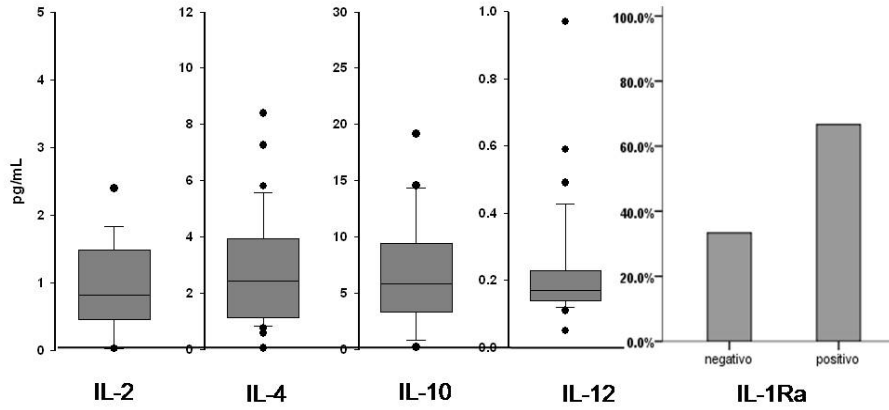
Estadio 1



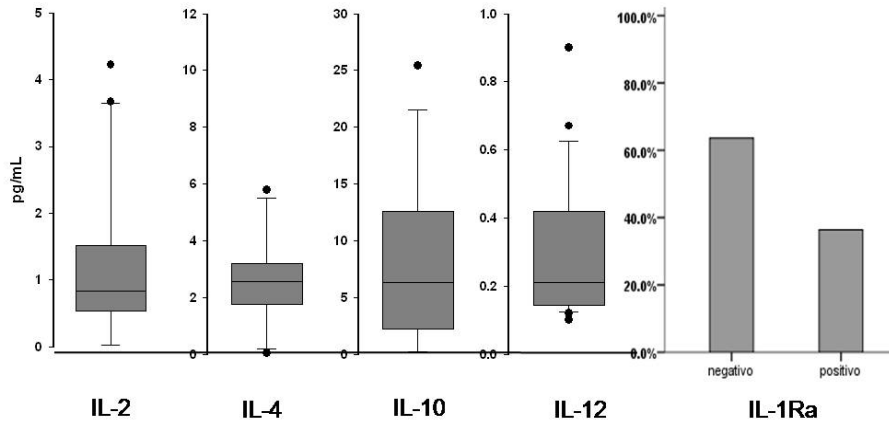
Estadio 2



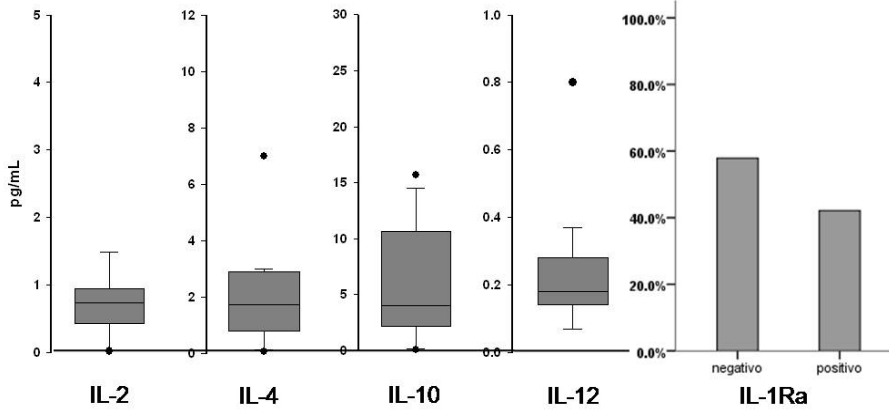
Estadio 3



Estadio 4

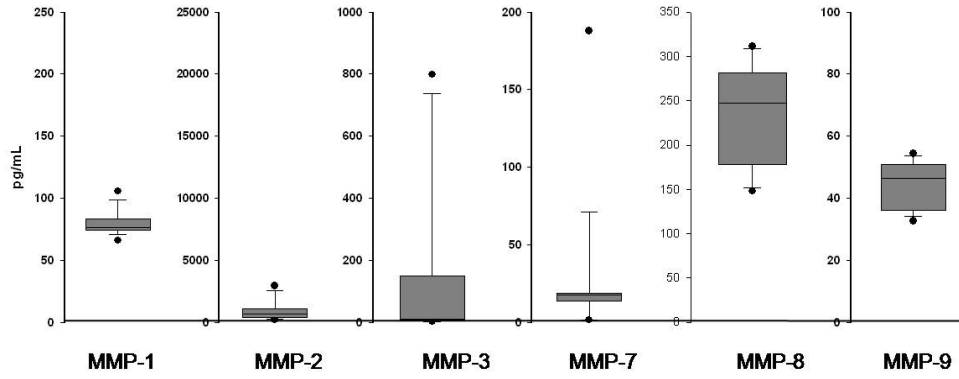


Estadio 5

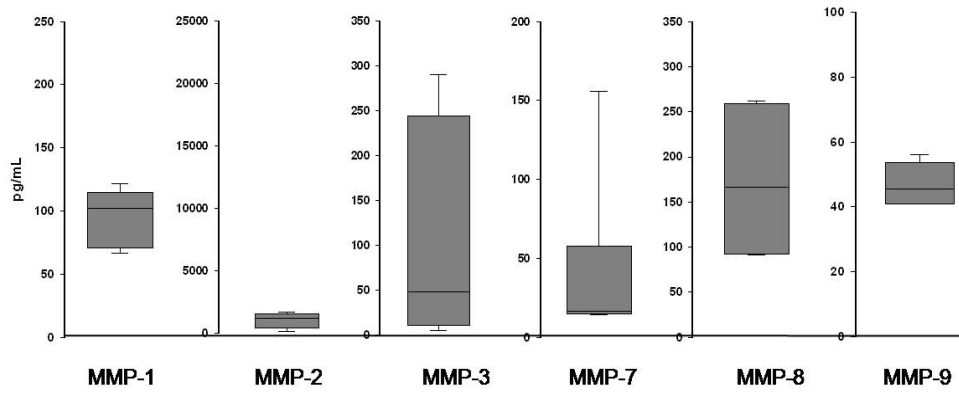


Perfil de metaloproteasas

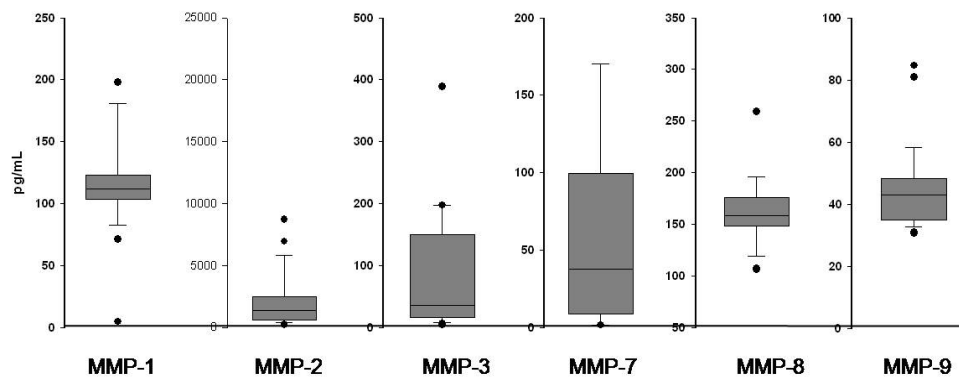
Estadio 0



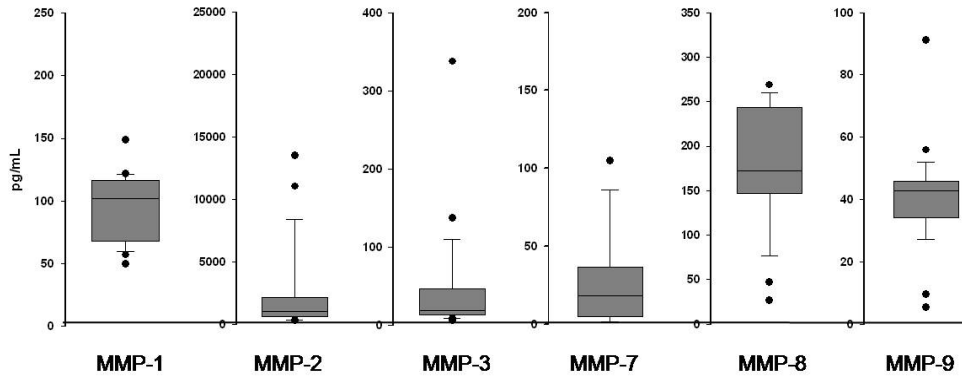
Estadio 1



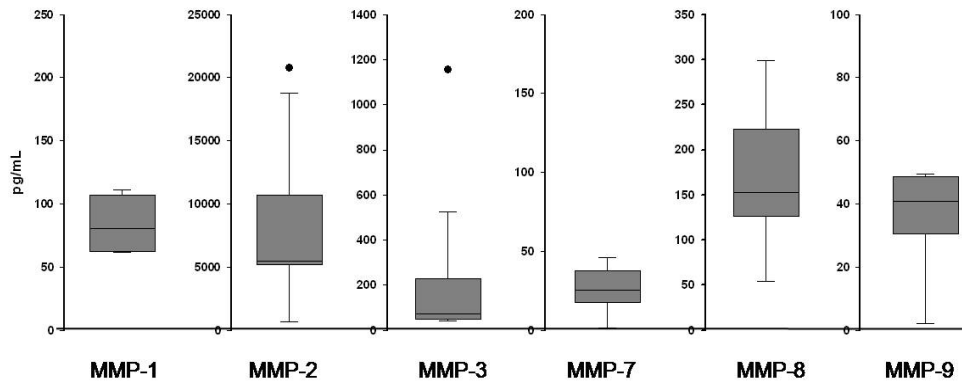
Estadio 2



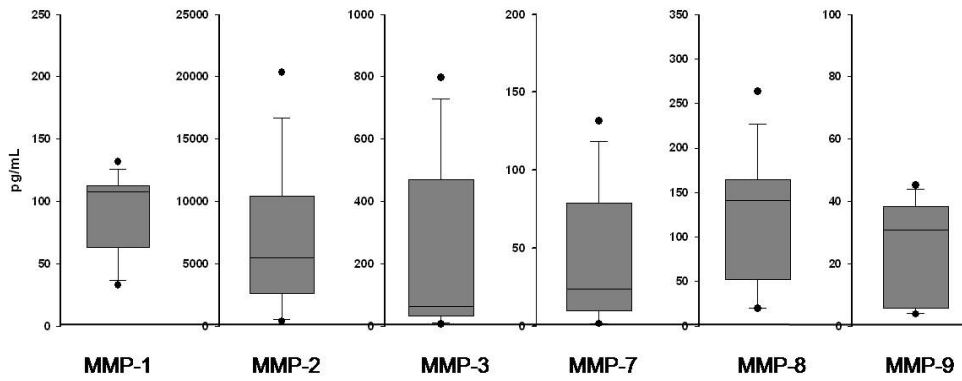
Estadio 3



Estadio 4



Estadio 5



DISCUSIÓN

El parto pretérmino es uno de los problemas más graves a los que se enfrenta la clínica obstétrica de nuestros días, ya que no existen herramientas para su detección oportuna y su tratamiento adecuado. Por otro lado, el pronóstico de salud para el producto pretérmino depende de la disponibilidad de tecnologías y tratamientos complejos, que no están disponibles de manera generalizada. Por todo lo anterior una de las posibles salidas, es desarrollar pruebas pronósticas que permitan anticipar cuales embarazos se encuentran con el mayor riesgo de complicarse en nacimiento pretérmino y así, enfocar todos los recursos humanos y materiales, para la toma de decisiones en la atención de la paciente y el feto, para de esta manera prevenir los efectos no deseados de un nacimiento pretérmino.

La prevalencia y las secuelas derivadas del nacimiento pretérmino en nuestro país y en otras partes del mundo revelan la necesidad de generar conocimiento específico que conduzca a la prevención del nacimiento pretérmino. El modelo de prevención no solo disminuiría la morbilidad y mortalidad maternofetal, sino que además reduciría el impacto económico que el nacimiento pretérmino genera al sector para la atención de dichas pacientes. A pesar de que existen antecedentes importantes en ésta área, hasta ahora no ha sido posible identificar marcadores que sean de utilidad clínica real. En este trabajo proponemos la utilización de marcadores bioquímicos que identifiquen estadios de activación de los microambientes gestacionales durante el trabajo de parto y que podrían ser utilizados para generar nuevas pruebas pronósticas del desarrollo de parto pretérmino.

Uno de los principales obstáculos en la búsqueda de biomarcadores del nacimiento pretérmino es la elección del tipo de muestra biológica idónea y su disponibilidad fácil y de forma ética. En el desarrollo de estas herramientas, es indispensable que la manipulación de la paciente sea mínima y por lo tanto que la toma de muestra no la exponga o cause daño. En el presente trabajo se decidió

explorar la posible utilidad del exudado cervicovaginal como una muestra que representara de manera directa el ambiente intrauterino y de manera específica el microambiente coriodecidual, sitio en el que confluyen los tejidos maternos y fetales.

La secreción de proteínas hacia el exudado cervicovaginal ha sido documentada por otros autores⁶³ y se ha propuesto que este tipo de muestra es una alternativa a la utilización de líquido amniótico en la búsqueda de marcadores pronósticos del nacimiento pretérmino. En el exudado cervicovaginal es posible identificar moléculas derivadas de la contracción uterina y/o por inflamación de la placenta y membranas fetales antes del nacimiento, lo que la hace una muestra idónea, de fácil obtención mediante una técnica invasiva menos riesgosa, y que no implica daño a la paciente. La identificación de diferentes proteínas secretadas hacia el exudado cervicovaginal, permiten inferir su origen y función, de manera que se puede reconstruir la activación de los diferentes tejidos que participan en el trabajo de parto.

Conforme avanza la tecnología, la búsqueda de marcadores puede hacerse aún más compleja y completa de esta forma, el análisis proteómico permite explorar con una visión más amplia el conjunto de las moléculas presentes en una muestra biológica como el exudado cervicovaginal y las posibles interacciones funcionales que representan. En este trabajo se determinó la concentración de algunas citocinas y MMPs en el exudado cervicovaginal, mediante el microarreglo de proteínas en suspensión para tratar de relacionar su liberación en ECV con las fases de progresión del trabajo de parto.

La biología del trabajo de parto a término o pretérmino a pesar de ser más compleja permite aceptar la participación de al menos tres procesos fisiológicos: 1) Remodelación del cuello uterino para permitir el borramiento y dilatación; 2) Estimulación de las contracciones miométriales de forma regular e intensa para

expulsar el feto de la cavidad uterina y 3) Pérdida de la integridad de las membranas fetales que conduce a su debilitación y por lo tanto a la ruptura.

Una vez que se cumple con el período gestacional, el cérvix, tejido uterino y membranas fetales inician una serie de cambios estructurales y liberan señales y mediadores bioquímicos que coordinan la secuencia de eventos que desencadenan el trabajo de parto. Independientemente del estímulo inicial que activa el trabajo de parto, es la edad gestacional en que se desarrolla y la sincronía existente entre los diferentes tejidos participantes lo que distingue entre un parto fisiológico y uno pretérmino⁶⁴. En ambos se presentan las fases de activación descritas previamente en la sección de antecedentes tanto para el tejido uterino como para el cérvix, así como la degradación de la matriz extracelular en las membranas fetales.

Algunos de los factores involucrados en estos procesos se relacionan con el arribo e invasión de leucocitos hacia los tejidos embrionarios, la remodelación de la matriz extracelular y la actividad proteolítica. Conjuntando lo reportado por diversos autores²⁻¹², durante el trabajo de parto existe la participación tanto de citocinas, prostaglandinas, MMPs y hormonas. Algunas de estas moléculas, promueven la liberación de nuevas señales que estimulan o inhiben la regulación de otros genes; inducen la expresión de receptores de superficie o moléculas efectoras, para finalmente amplificar la señal inicial del trabajo de parto. La influencia de leucocitos, principalmente neutrófilos en el cuello uterino induce a la producción de diferentes citocinas como IL-6, IL-8, IL-1 β y TNF α . Así mismo IL-1 β induce la producción de MMP-1, MMP-3 y MMP-9 e inhibe la del TIMP, desencadenando así el mecanismo de maduración cervical, la pérdida de elasticidad de las membranas fetales y favoreciendo su ruptura en fases previas al nacimiento.

La participación de las citocinas (Bowen y Cols⁶⁵, 2002) en diferentes fases del parto, incluyendo las contracciones uterinas, la ruptura de las membranas, y la

dilatación del cuello uterino, permite asegurar que esta familia de compuestos son elementos centrales en la red de comunicación y regulación funcional que opera dentro del microambiente materno placentario durante el trabajo de parto. Derivado de lo anterior, se ha propuesto que el trabajo de parto normal es un fenómeno inflamatorio y que por esta razón, la presencia de infección intramniótica podría explicar el desarrollo del nacimiento pretérmino, ya que la presencia de microorganismos en este sitio, desencadena la liberación de los mismos mediadores utilizados en el control del trabajo de parto normal.

En el presente trabajo se determinaron 20 distintas proteínas, incluyendo citocinas como: IL-1 β , IL-1Ra, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, INF γ y TNF α ; metaloproteasas: MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-12 y MMP-13; además de fibronectina fetal y prostaglandina E₂, todas ellas liberadas y detectadas en el exudado cervicovaginal. A diferencia de la gran mayoría de las investigaciones encontradas en la literatura, éste es el primer trabajo con el enfoque más amplio que se ha realizado en busca de probables marcadores del trabajo de parto. Uno de los estudios previos en donde se analizaron más de una molécula en el exudado cervicovaginal fue el realizado en el 2004 por Grenache y cols; quienes en el exudado cervicovaginal midieron la secreción de TNF α , IL-1 β , IL-2⁶⁶, en busca también de marcadores del parto pretérmino.

Otra de las aportaciones novedosas a lo descrito anteriormente en otros trabajos, es que, al reconstruir el progreso del trabajo de parto, fue posible evidenciar que el aumento reportado previamente por diversos autores al cuantificar la secreción de algunas proteínas hacia el líquido amniótico y/o exudado cervicovaginal durante el trabajo de parto normal no se realiza como una respuesta aguda, sino mas bien como un perfil de secreción que va en aumento conforme avanza el trabajo de parto en el exudado cervicovaginal, y en especial la respuesta proinflamatoria.

Los resultados obtenidos para IL- 1 β muestran concordancia con la literatura^{24,67} que indica que existe un aumento durante el trabajo de parto, sin embargo al

seccionarlo en estadios se observa que el aumento es ligero pero estadísticamente significativo en su secreción de forma gradual hacia los estadios más avanzados del trabajo de parto. Por otro lado, la actividad biológica de esta citocina tenderá a aumentar también, como resultado de la disminución progresiva del IL-1Ra, que disminuye de forma progresiva y con ello, la cantidad de IL-1 β , que está en aumento, resultaría en una mayor disponibilidad de la citocina hacia sus receptores en las células, durante el trabajo de parto. La inhibición de IL-1 β por IL-1Ra en etapas intermedias del embarazo podría deberse a una sobre expresión del gen para IL-1Ra que saturaría al sistema de ligandos solubles, y una vez que se enciende el mecanismo del trabajo de parto, probablemente se inhibe de forma parcial la expresión del gen para IL-1Ra. Por lo tanto, se aseguraría la estimulación de membranas fetales para la producción de PGs y expresión de receptores a PGs en miometrio así como la inducción de la síntesis de MMPs.

En el caso de IL-6, una de las citocinas que más ha sido estudiada por la fuerte asociación clínica que tiene la infección intrauterina y con el desarrollo del parto pretérmino; dado que es una molécula amplificadora de la respuesta inflamatoria, se le ha relacionado de manera directa con la presencia de infecciones del tracto reproductivo durante el embarazo.

Al igual que para muchas otras citocinas, la mayor parte de los estudios que existen descritos en la literatura se han orientado hacia el papel que tienen en la respuesta a la infección, sin embargo, no existe suficiente información de su comportamiento en el desarrollo del trabajo de parto normal. Trabajos previos se han enfocado a medir la concentración de la IL-6 al inicio del trabajo de parto y hasta la fecha no está documentado el cambio que mostramos en este trabajo y que permite reforzar el concepto de que la IL-6 forma parte de la cadena de eventos que acompañan al desencadenamiento del parto en el humano.

Algunas posibles funciones que se han postulado para la IL-6 al ser proinflamatoria, es que durante las fases tempranas de la inflamación, activa e

induce la maduración de neutrófilos y macrófagos además de promover la diferenciación de las células “natural killer” (NK), todas ellas células blancas que invaden el tejido cervical y endometrial al inicio del trabajo de parto para contribuir a la progresión del mismo⁶⁸. IL-6 induce la síntesis de proteínas de fase aguda en los hepatocitos (p. ej. aumento de la proteína C reactiva en suero materno que generalmente precede al desarrollo de corioamnionitis clínica y al comienzo del parto prematuro en mujeres con RPM) y la conversión de las células B en células productoras de anticuerpos. También actúa como factor de crecimiento y puede estimular la expresión de receptores a oxitocina en las células de miometrio para incrementar la respuesta a oxitocina⁶⁹. Y finalmente se postula que IL-6 es un potente estimulador del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA), para que se secrete cortisol adrenal como consecuencia de la activación del eje HPA, por aumento del CRH⁷⁰. Este eje ha sido ampliamente estudiado relacionado con el estrés y el trabajo de parto.

Como se pudo documentar en el presente estudio, la participación de IL-6 puede darse hacia la etapa final del trabajo de parto, hecho que probablemente se deba a que en reacciones inflamatorias, además de ser un importante regulador de la inflamación e inmunidad es considerada como el enlace entre el sistema endocrino e inmunológico⁷¹, ya que su acción es pleiotrópica. Así mismo, IL-6 es considerada como anti inflamatoria ya que inhibe la secreción TNF α y de IL-1 en los macrófagos; otra de sus probables funciones durante el trabajo de parto avanzado se daría por ser inductora de la expresión de proteínas de fase aguda en respuesta al proceso inflamatorio previo ya que actúa como regulador de la biosíntesis de fibrinógeno y haptoglobina, después del daño tisular o la infección⁷².

Ahora bien, el organismo esta capacitado para cubrir y reparar cualquier daño por lo tanto debe existir un mecanismo de homeostasis para evitar un daño mayor a los tejidos. Durante los diferentes estadios se detectaron también citocinas reguladoras, que de forma similar a las proinflamatorias aumentan hacia los

estadios de mayor activación. Es el caso de IL-10 e IL-4 quienes al encontrarse elevadas pudiesen estar actuando para reducir el proceso inflamatorio, interrumpiendo la estimulación uterina.

Las moléculas secundarias efectoras se secretan una vez que se indujo la primer señal durante la fase de estimulación del trabajo de parto, por los diferentes tipos celulares al recibir el estímulo primario; este es el caso de PGE2 que es secretada por las membranas fetales y la decidua activadas por estímulos como el de la IL-1 β , y a diferencia del aumento durante el trabajo de parto reportado en líquido amniótico no se encontraron diferencias en su concentración en el exudado cervicovaginal, aún comparando contra el estadio cero.

El diferente comportamiento de la concentración de PGE2 en el exudado cervicovaginal y líquido amniótico, podría explicarse de dos formas alternas: en la primera se considera que el líquido amniótico es una de las principales vertientes de lo secretado por las membranas fetales, una de las fuentes principales de prostaglandinas. A diferencia de detectarlo en el exudado cervicovaginal, en donde fluyen sólo los restos de prostaglandinas que no se difundieron en el miometrio. Por lo tanto, a pesar de una secreción elevada de esta molécula, difícilmente sería detectado en el exudado.

Otra explicación, quizá un poco más a demostrar sería que la PGE2 a lo largo del período gestacional es secretada en concentraciones que no se modifican a través del tiempo, y que de acuerdo con los estudios en músculo liso uterino puede actuar como relajante y anti-inflamatorio manteniendo así la fase de quiescencia uterina. Esta afirmación fue postulada por Slater y Cols. en 2006⁷³, con base en un ensayo de contracción muscular y en donde reporta que conforme adiciona PGE2 al miometrio disminuye el porcentaje de respuesta integral, el pico de tensión y la duración de la respuestas de forma inversa a la dosis de PGE2. Aquí mismo hace un análisis de los tipos de receptores expresados con el estímulo por lo que postula que una vez llegado el momento del trabajo parto, existe un cambio en el

tipo de receptores que el tejido expone para PGE2 induciendo con ello la actividad uterina, a diferencia de los expresados durante todo el embarazo.

La positividad para fFN, coincide con lo reportado anteriormente^{74, 75}. Debido a su función como adhesivo entre los tejidos embrionarios y la superficie uterina, su presencia en fluidos cervicovaginales después de la semana 24 de gestación es muy poco frecuente e indica el desprendimiento entre las membranas y la decidua. En este trabajo se pudo documentar que conforme avanza el trabajo de parto, el porcentaje de muestras positivas a fFN va en aumento, además de que su presencia es frecuente en muestras que presentaron RPM, por lo que se reafirma como una de las principales pruebas a realizar en pacientes con pronóstico de amenaza de parto o ruptura de membranas pretérmino; ya que constituye el mejor marcador disponible de pronóstico de parto, con que se cuenta actualmente⁷⁶.

A diferencia de la mayoría de los trabajos previos, en donde la determinación de las enzimas se basa en la detección inmunológica de la proteína sólo como proenzima y enzima activa, la técnica de microarreglos en solución detecta y cuantifica todas las formas en que es posible que se encuentren estas enzimas, sin diferenciar entre cada una de ellas, es decir, proenzima, enzima activa y/o acoplada a su inhibidor tisular (enzima-TIMP). La determinación de las diferentes MMP con respecto a los diferentes estadios de evolución del trabajo de parto no mostró diferencias significativas en su secreción hacia el exudado cervicovaginal. Sin embargo, algunas de ellas marcaban una tendencia a disminuir conforme avanzaba el trabajo de parto. Este es el caso de la MMP-9, para la cual ha sido documentado anteriormente por diversos grupos, incluido el nuestro, que su expresión y actividad aumentan en líquido amniótico y membranas fetales conforme éstas últimas se modifican durante el trabajo de parto o la ruptura prematura. Debido a su especificidad y momento de expresión se ha sugerido utilizar esta enzima como un marcador bioquímico del trabajo de parto.^{77, 78, 79}

En el exudado cervicovaginal la MMP-9 se detectó durante la progresión del trabajo de parto y conforme avanza el perfil de activación, la secreción de MMP-9 va disminuyendo. Las diferencias del presente trabajo con publicaciones anteriores en otros tejidos son: el tipo de muestra utilizada y la técnica. La probable disminución en la secreción de la enzima hacia el exudado podría sustentarse con lo reportado por Meraz⁸⁰ quien menciona que en la matriz extracelular de las membranas fetales existe un secuestro de MMPs hacia el sustrato formando un complejo adherido a la matriz extracelular. Lo que sumado a la alta afinidad de las enzimas hacia sus sustratos, sustentaría que una vez iniciado el trabajo de parto, la proteólisis de la matriz extracelular tanto de las membranas fetales como de la matriz cervical comience dentro del contexto del trabajo de parto. Esto nos llevaría a postular que la detección de MMPs en el exudado cervicovaginal disminuye porque las enzimas se reclutan hacia su sustrato.

Aunque no se analizó en el presente trabajo sería muy útil determinar que porcentaje de la enzima secretada se encuentra en su estado activo y con ello documentar la existencia o no de un patrón diferencial en su activación en el exudado cervicovaginal conforme avanza el trabajo de parto. Esta sugerencia se basa en que en estudios previos en un modelo de rata⁸¹, en donde se muestra que 12 horas antes de iniciado el trabajo de parto, comienza a detectarse en líquido amniótico y en extractos de membranas fetales, una enzima de 92 kDa, mismo que coincide con el aumento de actividad proteolítica y con la expresión del mRNA de MMP-9.

CONCLUSIONES.

Nuestro diseño permitió distinguir la progresión del trabajo de parto en 3 diferentes estadios de actividad uterina y de cambios cervicales, definidos por el perfil de composición de citocinas y otras moléculas contenidas en el exudado cervicovaginal.

Existe correlación entre el desarrollo de parto efectivo y el paso de diferentes moléculas al exudado cervicovaginal, caracterizada por un ambiente proinflamatorio.

Uno de los cambios más aparentes en la composición del exudado cervicovaginal es la disminución en la concentración de IL-1Ra con el inicio del trabajo de parto efectivo. Esto permite incluir a ésta molécula como uno de los mediadores relevantes en el trabajo de parto y como un candidato a posteriores estudios como biomarcador del evento.

Otra molécula con potencial de utilidad para el diseño de pruebas pronósticas es la IL-6, que incrementa su valor una vez que se ha iniciado el trabajo de parto.

REFERENCIAS.

-
- ¹ Hill H, Juy S. The preterm prediction study: A clinical risk assessment system. *Am J Obstet Gynecol.* 1996. 174:1885-95.
- ² Bernal AL. Overview of current research in parturition. *Exp Physiol.* 2001. 86(2):213-22.
- ³ MohanAR, Loudon JA, Bennett PR. Molecular and biochemical mechanisms of preterm labour. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2004. 9(6):437-44.
- ⁴ Norwitz ER, Robinson JN, Challis JR. The control of labor. *N Engl J Med.* 1999. 341:660-666.
- ⁵ Yu SY, Leppert PC. The collagenous tissues of the cervix during during labor and delivery. In: Leppert PC, Woessner JF Jr, eds. *The Extracellular Matrix of the Uterus, Cervix and Fetal Membranes: Synthesis, Degradation and Hormonal Regulation.* Ithaca, NY: Perinatology Press, 1991: 68–76.
- ⁶ Kleissel HP, van der Rest M, Naftolin F, Glorieux FK, de Leon A. Collagen changes in the human uterine cervix at parturition. *Am J Obstet Gynecol.* 1978; 130:748–753.
- ⁷ Aspden RM. The theory of fiber reinforced composition materials applied to the mechanical properties of the cervix during pregnancy. *J Theol Biol.* 1988; 130:213–221.
- ⁸ Uldbjerg N, Danielsen CC. A study of the interaction in vitro between type I collagen and a small dermatan sulfate proteoglycan. *Biochem J.* 1988; 251:643–648.
- ⁹ Rechberger T, Woessner JF Jr. Collagenase, its inhibitors, and decorin in the lower uterine segment in pregnant women. *Am J Obstet Gynecol.* 1993; 168:1598–1603.
- ¹⁰ Rechberger T, Abramson SR, Woessner JF Jr. Onapristone and prostaglandin E2 induction of delivery in the rat in late pregnancy: A model for the analysis of cervical softening. *Am J Obstet Gynecol.* 1996; 175:719–723.
- ¹¹ Yu SY, Leppert PC. The collagenous tissues of the cervix during during labor and delivery. In: Leppert PC, Woessner JF Jr, eds. *The Extracellular Matrix of the Uterus, Cervix and Fetal Membranes: Synthesis, Degradation and Hormonal Regulation.* Ithaca, NY: Perinatology Press, 1991: 68–76.
- ¹² Junqueira LCU, Zugaib M, Montes GS, Toledo OMS, Krisztan RM, Shigihara KM. Morphological and histochemical evidence for the occurrence of collagenolysis and for the role of neutrophilic polymorphonuclear leukocytes during cervical dilatation. *Am J Obstet Gynecol.* 1980; 138:273–281.
- ¹³ . Uldbjerg N, Ekman G, Malmstrom A, Olsson K, Ulmsten U. Ripening of the human uterine cervix related to changes in collagen, glycosaminoglycans, and collagenolytic activity. *Am J Obstet Gynecol.* 1983; 147:662–666.

-
- ¹⁴ Uldbjerg N, Ekman G, Malmstrom A, Olsson K, Ulmsten U. Ripening of the human uterine cervix related to changes in collagen, glycosaminoglycans, and collagenolytic activity. *Am J Obstet Gynecol.* 1983; 147:662–666.
- ¹⁵ Tanaka K, Nakamura T, Ikeya H. Hyaluronate depolymerization activity induced by progesterone in cultured fibroblasts derived from human uterine cervix. *FEBS Lett.* 1994; 347:95–98.
- ¹⁶ Junqueira LCU, Zugaib M, Montes GS, Toledo OMS, Krisztan RM, Shigihara KM. Morphological and histochemical evidence for the occurrence of collagenolysis and for the role of neutrophilic polymorphonuclear leukocytes during cervical dilatation. *Am J Obstet Gynecol.* 1980; 138:273–281.
- ¹⁷ Osmers R, Rath W, Adelman-Grill BC. Collagenase activity in the the human cervix during parturition: The role of polymorphonuclear leukocytes. In: Leppert PC, Woessner JF Jr, eds. *The Extracellular Matrix of the Uterus, Cervix and Fetal Membranes: Synthesis, Degradation and Hormonal Regulation.* Ithaca: Perinatology Press, 1991: 113–118.
- ¹⁸ El Maradny E, Kanayama N, Kobayashi H, Hossain B, Khatun S, Liping S, Kobayashi T, Terao T. The role of hyaluronic acid as a mediator and regulator of cervical ripening. *Hum Reprod.* 1997;12(5):1080-8
- ¹⁹ Leppert PC, Cerreta JM, Mandl I. Orientation of elastic fibers in the human cervix. *Am J Obstet Gynecol.* 1986; 155:219–224.
- ²⁰ Leppert PC, Yu SY, Keller S, Cerreta J, Mandl I. Decreased elastic fibers and desmosine content in incompetent cervix. *Am J Obstet Gynecol.* 1987; 157:1134–1139.
- ²¹ Leppert PC. Anatomy and physiology of cervical ripening. *Clin Obstet Gynecol.* 1995; 38:267–279.
- ²² Fortunato SJ, Menon R, Lombardi SJ. MMP/TIMP imbalance in amniotic fluid during PROM: an indirect support for endogenous pathway to membrane rupture. *J Perinat Med.* 1999;27(5):362-8.
- ²³ Winkler M, Fischer D-C, Hlubek M, van de Leur E, Haubeck H-D, Rath W. Interleukin-1[beta] and interleukin-8 concentrations in the lower uterine segment during parturition at term. *Obstet Gynecol.* 1998; 91:945–948.
- ²⁴ Hiro D, Ito A, Matsuta K, Mori Y. Hyaluronic acid is an endogenous inducer of interleukin-1 production by human monocytes and rabbit macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 1986; 140:715–722.
- ²⁵ Hakansson L, Venge P. The molecular basis of the hyaluronic acid-mediated stimulation of granulocyte function. *J Immunol.* 1987; 138:4347–4352.
- ²⁶ Parry S, Strauss JF. Premature rupture of the fetal membranes. *N Engl J Med.* 1998; 338:663-70
- ²⁷ Bryant-Greenwood GD. The extracellular matrix of the human fetal membranes: structure and function. *Placenta* 1998; 19:1-11

-
- ²⁸ Brown N L, Alvi S A, Elder M G, Bennett P R, M Sullivan H F. A spontaneous induction of fetal membrane prostaglandin production precedes clinical labour. *Journal of Endocrinology*. 1998. 157,
- ²⁹ Weiss G. *Endocrinology of Parturition. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2000. 85(12):4421-4425.
- ³⁰ Olson DM. The role of prostaglandins in the initiation of parturition. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2003. 17(5):717-30.
- ³¹ Weiss G. *Endocrinology of Parturition. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2000. 85(12): 4421-25.
- ³² Gibb W. The role of prostaglandins in human parturition. *Ann Med*. 1998 Jun;30(3):235-41.
- ³³ Rezapour M, Bäckström T, Lindblom B, Ulmsten U. Sex steroid receptors and human parturition. *Obstet Gynecol*. 1997;89(6):918-24.
- ³⁴ World Health Organization (WHO). Preventing prolonged labor : A practical guide I. Geneva WHO/FHE/MSH/93.8, 93.9, 93.11 - 1994. Disponible en: <http://www.who.int/reproductive-health/publications/partograph/index.htm> . (Consulta realizada 7/08/2007)
- ³⁵ Challis, JRG; Lye SJ. Parturition. *The Physiology of Reproduction*. Second Edition. Raven Press, Ltd. New York. 1994. Pp. 985-1018.
- ³⁶
- ³⁷ Goldenberg RL. The management of preterm labor. *Obstet Gynecol*. 2002. 100:1020-1037.
- ³⁸ Challis JRG, Sloboda DM, Alfaidy N, Lye SF, Gibb W, Patel FA, Whittle WL and Newnham JP. Prostaglandins and mechanisms of preterm birth. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2004. 2:74.
- ³⁹ Maymon E, Romero R, Pacora P, et al. Evidence for the participation of interstitial collagenase (matrix metalloproteinase 1) in preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol*. 2000. 183:914-920.
- ⁴⁰ Mercer BM, Goldenberg RL, Das A, et al. The preterm prediction study: A clinical risk assessment system. *Am J Obstet Gynecol*. 1996;174:1885–1893.
- ⁴¹ Bakketeig LS, Hoffman HJ. Epidemiology of preterm birth: Results from a longitudinal study of births in Norway. In Elder MG, Hendricks CH, eds. *Preterm Labor*. London: Butterworths, 1981:17–46.
- ⁴² Ekwo EE, Gosselink CA, Moawad A. Unfavorable outcome in penultimate pregnancy and premature rupture of membranes in successive pregnancy. *Obstet Gynecol*. 1992;80:166 –172.
- ⁴³ Borges G, Lopez-Cervantes M, Medina-Mora ME, et al. Alcohol consumption, low birth weight, and preterm delivery in the National Addiction Survey (Mexico). *Int J Addict*. 1993;28:355–368.

-
- ⁴⁴ Goldenberg RL, Cliver SP, Mulvihill XP, et al. Medical, psychosocial and behavioral risk factors do not explain the increased risk for low birth weight among black women. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;175: 1317–1324.
- ⁴⁵ Petrikovsky BM, Vintzileos AM. Management and outcome of multiple pregnancy of high fetal order: Literature review. *Obstet Gynecol Surv.* 1989;44:578 –584.
- ⁴⁶ Neilson JP, Verkuyl DAA, Crowther CA, et al. Preterm labor in twin pregnancies: Prediction by cervical assessment. *Obstet Gynecol.* 1988;72:719 –723.
- ⁴⁷ Nelly RW. Inflammatory mediators and parturition. *Reviews of Reproduction.* 1996. **1**, 89–96.
- ⁴⁸ Romero R, Espinoza J, Gonçalves LF, Kusanovic JP, Friel L, Hassan S. The role of inflammation and infection in preterm birth. Romero R, Espinoza J, Gonçalves LF, Kusanovic JP, Friel L, Hassan S. *Semin Reprod Med.* 2007. 25(1):21-39.
- ⁴⁹ Farina L, Winkelman C, A Review of the Role of Proinflammatory Cytokines in Labor and Noninfectious Preterm Labor. *Biological Research for Nursing.* 2005. 6(3): 230-238
- ⁵⁰ Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine Infection and Preterm Delivery. *The New England Journal of Medicine.* 2000.
- ⁵¹ Romero R, Gómez R, Chaiworapongsa T, Conoscenti G, Cheol KJ, Mee KY. The role of infection of preterm labor and delivery. *Pediatric and Perinatal Epidemiology.* 2001. 15 (sup 2), 41-56.
- ⁵² Andrews WW. Cervicovaginal cytokines, vaginal infection, and preterm birth. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2004. 190, 1179.
- ⁵³ Peltier MR. Immunology of term and preterm labor. *Reproductive biology and Endocrinology* 2003. 1:122.
- ⁵⁴ Osman I, Young A, Ledingham MA, Thomson AJ, Jordan F, Greer IA and Norman JE. Leukocyte density and pro-inflammatory cytokine expression in human fetal membranes, decidua, cervix and myometrium before and during labour at term. *Molecular Human Reproduction.* 2003. 9(1):41-45.
- ⁵⁵ Thomson AJ, Telfer JF, Young A, Campbell S, Stewart CJR, Cameron IT, Greer IA and Norman JE. Leukocytes infiltrate the myometrium during human parturition: further evidence that labour is an inflammatory process. *Human Reproduction* 1999. 14(1):229–236.
- ⁵⁶ Aagaard-Tillery KM, Nuthalapaty FS, Ramsey PS, Ramin KD. Preterm Premature Rupture of Membranes: Perspectives Surrounding Controversies in Management. *American Journal Of Perinatology.* 2005. 22(6):287-97
- ⁵⁷ Osman I, Young A, Ledingham MA, Thomson AJ, Jordan F, Greer IA, Norman JE. Leukocyte density and pro-inflammatory cytokine expression in human fetal membranes, decidua, cervix and myometrium before and during labour at term. *Mol Hum Reprod* 2003. 9:41-5.

-
- ⁵⁸ 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.
- ⁵⁹ Goldenberg RL, Goepfert AR, Ramsey PS. Biochemical markers for the prediction of preterm birth. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2005. 192, S36–46
- ⁶⁰ Junqueira, L.C., Zugaib, M., Montes, G.S., Toledo, O.M., Krisztan, R.M., Shigihara, K.M.I., Morphologic and histochemical evidence for the occurrence of collagenolysis and for the role of neutrophilic polymorphonuclear leukocytes during cervical dilation. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1980. 138, 273–281.
- ⁶¹ Sennströmg MB, Ekman G, Westergren-Thorsson G, Malmströmg A, Byström B, Endrésen U, Mlambo N, Norman M, Stabi B, Brauner A. Human Cervical Ripening, an inflammatory process mediated by cytokines. *Molecular Human Reproduction*. 2000. 6(4):375-381.
- ⁶² Yellon, S.M., Mackler, A.M., Kirby, M.A., The role of leukocyte traffic and activation in parturition. *J. Soc. Gynecol. Invest.* 2003. 10, 323–338.
- ⁶³ Matsuura H, Takio K, Titani K, Greene T, Lavery SB, Salyan ME, et al. The oncofetal structure of human fibronectin defined by monoclonal antibody FDC-6. Unique structural requirement for the antigenic specificity provided by a glycosylhexapeptide. *J Biol Chem* 1988;263:3314–22.
- ⁶⁴ Romero R, Espinoza J, Kusanovic JP, Gotsch F, Hassan S, Erez O, Chaiworapongsa T, Mazor M. The preterm parturition syndrome. *BJOG*. 2006; 113 Suppl 3:17-42.
- ⁶⁵ Bowen JM, Chamley L, Keelan JA, Mitchell MD. Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: Roles and regulation during human pregnancy and parturition. *Placenta*. 2002, 23(4): 257-273 (6 p.3/4)
- ⁶⁶ Grenache DG, Hankins K, Parvin C A and Gronowski A. Cervicovaginal Interleukin-6, Tumor Necrosis Factor- α , and Interleukin-2 Receptor as Markers of Preterm Delivery. *Clinical Chemistry* 2004. 50, No. 10.
- ⁶⁷ Lemancewicz A, Urban R, Urban J, Skotnicki M, Kretowska M, Sierakowski S. Evaluation of interleukin concentrations in amniotic fluid in preterm and term parturition and in oligohydramnios. *Med Sci Monit*. 2001;7(5):924-7
- ⁶⁸ Osman I, Young A, Ledingham MA, Thomson AJ, Jordan F, Greer IA, Norman JE. Leukocyte density and pro-inflammatory cytokine expression in human fetal membranes, decidua, cervix and myometrium before and during labour at term. *Mol Hum Reprod* 2003. 9:41-5.
- ⁶⁹ Rauk PN, Friebe-Hoffman U, Winebrenner LD, Chao JP. Interleukin-6 up-regulates the oxytocin receptor in cultured uterine muscle cells. *Am J Reprod Immunol* 2001. 45:148-53.
- ⁷⁰ Wilder RL. Neuroendocrine-immune system interactions and autoimmunity. *Annu Rev Immunol*. 1995;13:307-38.

-
- ⁷¹ Hirano T. Interleukin-6. In: Thomson A, Lotze M, editors. *The cytokine handbook*. 4th ed. San Diego (CA): Academic Press. 2003. p 197-228.
- ⁷² Sehgal, P. B., G. Grieninger, and G. Tosato. Regulation of the acute phase and immune responses: interleukin-6. *Ann. NY Acad. Sci.* 1989. 557:1-583.
- ⁷³ Slater DM, Astle1 S, Woodcock1 N, Chivers JE, Wit1 NCJd, Thornton S, Vatish M and Newton R. Anti-inflammatory and relaxatory effects of prostaglandin E2 in myometrial smooth muscle. *Molecular Human Reproduction* 2006. Vol.12, No.2 pp. 89–97.
- ⁷⁴ Vadillo-Ortega F, Córdoba K, Quezada A, Beltrán-Montoya J, Gutiérrez-Corchado S, Menocal-Tobías G. Evaluación de la fibronectina oncofetal y de la gelatinasa de 92kDa (MMP-9) como marcadores bioquímicos del trabajo de parto. *Perinatol Reprod Hum* 2002. 16: 108-112.
- ⁷⁵ Iams JD, Casal D, McGregor JA, Goodwin TM, Kreaden US, Lowensohn R, et al. Fetal fibronectina improves the accuracy of diagnosis of preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:141–5
- ⁷⁶ Peaceman AM, Andrews WW, Thorp JM, Cliver SP, Lukes A, Iams JD, 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.
- ⁷⁷ Fortunato SJ, Menon R, Lombardi SJ: Collagenolytic enzymes (gelatinases) and their inhibitors in human amniochorionic membrane. *Am J Obstet Gynecol.* 1997;177(4):731-741
- ⁷⁸ Vadillo-Ortega F, González-Avila G, Furth EE, Lei H, Muschel RJ, Stetler-Stevenson WG, Strauss III JF. 92-kd type IV collagenase (matrix metalloproteinase-9) activity in human amniochorion increases with labor. *Am J Pathol* 1995;146(1):148–156.
- ⁷⁹ Vadillo-Ortega F, Hernández MA, González-Avila G, Bermejo L, Iwata K, Strauss JF III. Increased matrix metalloproteinase activity and reduced tissue Inhibitor of metalloproteinases-1 levels in amniotic fluids from pregnancies complicated by premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174(4):1371-1376.
- ⁸⁰ Meraz-Cruz N, Ortega A, Estrada-Gutierrez G, Flores A, Espejel A, Hernandez-Guerrero C, Vadillo-Ortega F. Identification of a calcium-dependent matrix metalloproteinase complex in rat chorioallantoid membranes during labour. *Mol Hum Reprod.* 2006 Oct;12(10):633-41.
- ⁸¹ Meraz-Cruz N, Molina DG, Vadillo-Ortega F. Cambios secuenciales de metaloproteinasas de matriz extracelular durante la gestación y el trabajo de parto en el corioalantoides de la rata. *Rev. Invest. Clín.* 2003. 55(1):36-42.

ANEXOS

ANEXO 1

PROYECTO PARTO PRETÉRMINO
No. proyecto 212250-0

No. Exp. Consecutivo: _____
 Entrevistador: _____

IDENTIFICACIÓN DE LA PACIENTE

Nombre: _____ No. Expediente _____
 Fecha(d/m/a): ___/___/___ Edad _____ Teléfono _____ Motivo de Consulta: _____

ANTECEDENTES GINECO/OBSTÉTRICOS

Menarca: _____ FUM _____ Edad gestacional: _____
 G: _____ A: _____ P: _____ C: _____
 Diabetes gestacional Preeclampsia HASC Parto Pret. previo
 No. PP _____ Dx de Cervicovaginitis Cesarea Iterativa Tabaquismo (
 Enfermedades autoinmunes: (

SIGNOS Y SÍNTOMAS ACTUALES

- Pesantez pélvica (
- Sangrado escaso (
- Sangrado abundante (
- Leucorrea (
- Fiebre (
- Dolor lumbar (
- Expulsión de tapón (
- Hipersensibilidad uterina (
- LA fétido (
- LA con pus (
- Taquicardia materna (
- Taquicardia fetal (
- AU menor 3/10 min (
- AU mayor 3/10 min (
- Actividad sexual en ultimas 24hrs (
- TA: / .
- Comentarios: _____
- _____
- _____
- _____
- _____

ACTIVIDAD UTERINA

Clínica Tocografía
 Ausente
 Irritación mínima
 Esporádica irregular
 Amenaza de PP
 Trabajo de parto
 Fondo uterino _____

CAMBIOS CERVICALES

Dilatación ausente
 Dilatación intermedia (1-3 cm)
 Dilatación avanzada _____ Cm
 Borramiento de cervix
 Periodo expulsivo:
 Observaciones: _____

MEMBRANAS

Integras
 RPM clínica
 RPM laboratorio
 Amniorrexis
 Tiempo de ruptura _____
 Tiempo de latencia _____

FÁRMACOS

Antibióticos: _____
 Dosis: _____
 Betametasona
 Ovulos vaginales
 Hidrocortisona
 Prednisona
 Oxitocina

TERAPIA Tocolítica

Medidas generales:
 Decúbito lateral
 Hidratación
 B-miméticos: OR ETA
 Dosis _____
 Sulfato de magnesio: (
 Dosis: _____
 Indometacina: 1(2(+(

LABORATORIO

BH Leu: _____
 Neutrofilos: _____ Bandas: _____ Hb: _____
 EGO: _____
 Cultivo de exudado: _____
 Fibronectina: _____
 Madurez pulmonar: _____
 Proteína C reactiva: _____
 Hora de la toma de exudado: _____

ANEXO 2

SISTEMA DE DETECCIÓN MÚLTIPLE DE MOLÉCULAS EN SUSPENSIÓN.

Equipo:

- Plataforma Luminex X-Map 100 equipo de lectura de placas Bio-plex (Bio-Rad).
- Agitador de Placas de ELISA con capacidad de hasta 1200 rpm x minuto.

Citocinas

- Kit de reactivos base para el análisis de citocinas catálogo 171-304000 (Bio-Rad), que incluye amortiguadores, placa de 96 pozos y estreptavidina ficoeritrina.
- Kit de esferas cubiertas con anticuerpos específicos, anticuerpos de detección y estándar de citocinas humanas, (human 10 plex cat. X500086CR4), que permite detectar y cuantificar a IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, INF γ , TNF α , IL-1 β , IL-12 (p70) e IL-1ra.

Desarrollo de la técnica.

Para la realización de la técnica se siguió el protocolo del fabricante:

- Reconstituir el estándar
- Preparar la dilución del cóctel de microesferas conjugadas. Y la curva estándar de proteínas recombinantes.
- Prehumedecer la placa con 150 uL de amortiguador de corrida. (assay buffer) y aplicar vacío.
- Colocar 50 uL del cóctel de microesferas en cada pozo. Aplicar vacío.
- Agregar 50 μ l de los estándares para la curva y 50 uL de las muestras. Se cubre la placa, se protege de la luz y se deja incubar durante 1 hora a T° ambiente con agitación constante de 500 rpm.
- Se realizan 3 lavados por aspiración con amortiguador de lavado.
- Se prepara la dilución del cóctel de anticuerpos biotinilados para la detección y se adicionan 25 μ l/pozo, de dejan en incubación durante 1 hora bajo las condiciones descritas anteriormente.
- Se realizan 3 lavados por aspiración.
- Se prepara la dilución de estreptavidina ficoeritrina y se adicionan 50uL a cada pozo, dejando en incubación durante 30 min, con agitación de 500 rpm.
- Se realizan 3 lavados por aspiración.
- se resuspenden las microesferas con 125 de amortiguador de ensayo con agitación de 1100 rpm durante 30 segundos.
- se lee la placa en la plataforma Luminex (Bio-Plex de Bio-Rad)

La detección y cuantificación de la concentración de cada una de las moléculas se realiza mediante el software de análisis del equipo a través de métodos de regresión. Los resultados son expresados como concentración en pg/ml presente en nuestra muestra, para cada una de las moléculas analizadas, y realiza la cantidad de curvas estándar de acuerdo a la cantidad de moléculas que se analicen por ensayo. La técnica es cuantitativa.

ANEXO 3

Determinación de MMPs por ensayo múltiple.

Equipo:

- Plataforma Luminex X-Map 100 equipo de lectura de placas Bio-plex (Bio-Rad).
- Agitador de Placas de ELISA con capacidad de hasta 1200 rpm x minuto.
-

MMPs

- Kit base para el análisis de MMPs humanas que incluye amortiguadores, placa de 96 pozos, estreptavidina ficoeritrina, y cocktail de proteínas recombinantes para la elaboración de la curva estándar (R&D, cat. LMP000).
- Conjugado de microesferas y anticuerpos biotinilados para MMP-1 (cat. LMP901); MMP-2 (cat. LMP902); MMP-3 (cat. LMP513); MMP-7 (cat. LMP-907); MMP-8 (cat. LMP908); MMP-9 (cat. LMP911); MMP-12 (cat. LMP919); MMP-13 (cat. LMP511).

Se siguió el procedimiento sugerido por el fabricante.

Procedimiento:

- Preparar todos los reactivos y estándares siguiendo las instrucciones.
- Prehmedecer la placa con 100 uL de amortiguador de lavado y filtrar con vacío.
- Colocar 50 uL de la mezcla de microesferas cubiertas con anticuerpos en cada pozo.
- Colocar 50 uL de estándares o muestras en los pozos. Incubar 2 horas a temperatura ambiente con agitación orbital de 500 ± 50 rpm.
- Lavar 3 veces por aspiración con amortiguador de lavado (100 uL/pozo)
- Colocar la mezcla de anticuerpos biotinilados. Incubar por 1 hora a temperatura ambiente, con agitación de 500 ± 50 rpm.
- Lavar 3 veces.
- Colocar 50 uL por pozo de la dilución de estreptavidina-PE. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente con agitación.
- Realizar 3 lavados.
- Resuspender las microesferas con 100 uL de amortiguador de lavado, agitar 2 minutos.
- Leer en el analizador Luminex 100.



Cambios en la concentración de la interleucina 6 en exudados cervicovaginales en trabajo de parto*

Aurora Espejel Núñez,* Myrna Godines Enríquez,** Gerardo Buendía Díaz,*** Eduardo Guzmán González,*** Jorge Beltrán Montoya,** Felipe Vadillo Ortega*

Nivel de evidencia: II-3

RESUMEN

Objetivo: evaluar la secreción de interleucina 6 (IL-6) en exudado cervicovaginal en una pseudocohorte que emula la evolución del trabajo de parto.

Material y método: se tomaron muestras de exudado cervicovaginal de pacientes con 20 a 40 semanas de gestación que se clasificaron en cinco estratos de evolución del trabajo de parto. Cada estrato refleja la activación progresiva de la actividad uterina y los cambios cervicales. A cada muestra se le determinó la IL-6 mediante el sistema Multiplex. Se eliminaron las muestras de las pacientes con datos de infección.

Resultados: se incluyeron 173 muestras repartidas en cada uno de los cinco estratos. A lo largo de la gestación existe secreción basal de IL-6 al exudado cervicovaginal que no se modifica hasta que aparece el trabajo de parto activo. Sólo cuando la actividad uterina se manifiesta en forma regular y efectiva, se demuestra aumento muy significativo en la concentración de IL-6 en el exudado.

Conclusiones: la IL-6 es una citocina proinflamatoria que aumenta de manera específica cuando se inicia la actividad uterina efectiva; por ello es un elemento susceptible de ser evaluado como marcador pronóstico del trabajo de parto normal y pretérmino.

Palabras clave: interleucina 6, trabajo de parto.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the secretion of interleukin 6 (IL-6) in cervicovaginal fluid in a pseudocohort that emulates the evolution of the labor.

Material and method: Samples of cervicovaginal fluid of patients with 20 to 40 weeks of gestation were taken, patients were classified in 5 strata of the development of the labor. Each stratum reflects the progressive activation of the uterine activity and the cervical changes. To each sample was made determination of IL-6 by means of the system Multiplex. The samples of patient with infection data were eliminated.

Results: 173 samples were included distributed in each one of the five strata. Basal secretion exists of IL-6 to the cervicovaginal fluid along the gestation, that doesn't modify until the active labor appears. Only when the uterine activity is manifested in form to regulate and effective, very significant increase is documented in the concentration of the IL-6 in the cervicovaginal fluid.

Conclusions: The IL-6 it is a proinflammatory cytokine that increases in a specific way in the moment in that the effective uterine activity begins, thus, it is an excellent candidate to be evaluated as marker presage of the event of normal labor and preterm.

Key words: interleukin 6, labor.

RÉSUMÉ

Objectif : évaluer la sécrétion de l'IL-6 en exsudat cervico-vaginal dans une pseudo-cohorte qui émule l'évolution du travail.

Matériel et méthode : on a pris des échantillons d'exsudat cervico-vaginal de patientes avec 20 à 40 semaines de gestation qui se sont classées en cinq strates d'évolution du travail. Chaque strate reflète l'activation progressive de l'activité utérine et les changements cervicaux. On a déterminé dans chaque échantillon l'IL-6 au moyen du système Multiplex. On a éliminé les échantillons des patientes avec des données d'infection.

Résultats : on a inclus 173 échantillons distribués en chacune des cinq strates. Tout au long de la gestation il existe sécrétion basale d'IL-6 à l'exsudat cervico-vaginal qui ne se modifie pas jusqu'à l'apparition du travail actif. Seulement lorsque l'activité utérine se manifeste de forme régulière et effective, il y a une augmentation très significative dans la concentration de l'IL-6 dans l'exsudat.

Conclusions : l'IL-6 est une cytokine pro inflammatoire qui augmente de manière spécifique lors du début de l'activité utérine effective ; elle est pour cela un élément susceptible d'être évalué comme marqueur pronostic du travail normal et avant-terme.

Mots-clés : interleukine-6, travail.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a secreção de IL-6 em exsudato cérvico vaginal com um corte supérfluo que imita a evolução do trabalho de parto.

Material e método: Tomaram amostras de exsudato cérvico vaginal de pacientes com 20 a 40 semanas de gestação que se classificaram em cinco fases de evolução do trabalho de parto. Cada fase reflete a ativação progressiva da atividade uterina e as mudanças cervicais. A cada amostra se determinou o IL-6 mediante o sistema Multiplex. Amostras de pacientes com dados de infecção foram eliminadas.

Resultados: Foram incluídas 173 amostras repartidas em cada uma das cinco fases. Durante o período de gestação existe a secreção basal de IL-6 no exsudato cérvico vaginal que não se altera até, que se tenha o trabalho de parto ativo. Há um aumento muito significativo na concentração de IL-6 do exsudato, somente quando a atividade uterina se manifesta de forma regular e efetiva.

Conclusões: IL-6 é uma citocina proinflamatória que aumenta de maneira específica quando se inicia a atividade uterina efetiva; é um elemento suscetível de ser avaliado como um marcador prognóstico do trabalho de parto normal y pretérmino.

Palavras-chave: interleucina-6, trabalho de parto.

Las citocinas son proteínas pequeñas que regulan una amplia gama de funciones fisiológicas en los humanos. La interleucina 6 (IL-6) es una citocina de 185 aminoácidos, glucosilada, que se sintetiza como proteína precursora de 212 aminoácidos, derivada de un gen localizado en el 7p21 del genoma humano.¹ Con base en su función se clasifica como miembro de la familia de citocinas que inducen la expresión de proteínas de fase aguda inflamatoria y actúa como reguladora de la biosíntesis de fibrinógeno y haptoglobina, después de daño tisular o infección.² La IL-6 es una citocina pleiotrópica relacionada con la respuesta inmunitaria antígeno específica y con reacciones inflamatorias. Es importante reguladora de la inflamación e inmunidad y se considera un enlace entre el sistema endocrino e inmunológico.³

El grupo de células capaces de secretar IL-6 incluye: células endoteliales, fibroblastos, monocitos-macrófagos, linfocitos T y B, granulocitos, queratinocitos y células del estroma endometrial. Cada una de estas células reacciona a estímulos fisiológicos que inducen la expresión y síntesis de IL-6, tales como otras citocinas proinflamatorias, como: IL-1, TNF- α e interferones.^{4,5} Su síntesis también es estimulada por endotoxinas bacterianas, oncostatina M, ARN y ADN viral. La IL-6 puede estimular o inhibir su propia síntesis, dependiendo del tipo celular. El receptor de IL-6 se expresa en células T, células B activadas por mitógenos, monocitos periféricos y algunos macrófagos y tipos celulares tumorales derivados de células B. La señal de transducción mediada por el receptor de IL-6 implica la participación de la proteína cinasa C y de la adenilato ciclasa. La IL-6 tiene un amplio límite de efectos biológicos.

Diferentes estudios clínicos han señalado que la IL-6 es un marcador muy específico de la existencia de corioamnionitis, afección que se ha relacionado directamente con la inducción de trabajo de parto prematuro y rotura prematura de membranas. El aumento de las concentraciones de IL-6 en el líquido amniótico⁶ asociado con infección ha hecho pensar en su participación en el trabajo de parto y el nacimiento prematuro.⁷ El trabajo de parto pretérmino es una anomalía que se inicia por múltiples causas y que, en la actualidad, se reconoce como consecuencia de la activación anormal antes del término de la gestación, de al menos algunos de los mecanismos que desencadenan el trabajo de parto normal. El proceso del trabajo de parto se define como la activación de actividad uterina,⁸ de cambios cervicales y modificaciones estructurales en

- Este trabajo obtuvo el primer lugar del Premio Dr. José María Rodríguez otorgado por la Federación Mexicana de Ginecología y Obstetricia a los trabajos de investigación clínica presentados en el 58 Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia celebrado en Monterrey, NL, octubre 2007. Se realizó con apoyo del Fondo Sectorial de Salud de CONACyT (Proyecto 7036).
* Dirección de Investigación.
** Departamento de Urgencias y Tococirugía.
*** Residente de Ginecología y Obstetricia.
Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes.

Correspondencia: Dr. Felipe Vadillo Ortega. Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes. Montes Urales 800, Lomas de Virreyes, CP 11000, México, DF. Tel.: 5202-9381. E-mail: fvadillo@servidor.inper.edu.mx

Este artículo debe citarse como: Espejel NA, Godines EM, Buendía DG, Guzmán GE, Beltrán MJ, Vadillo OF. Cambios en la concentración de la interleucina 6 en exudados cervicovaginales en trabajo de parto. *Ginecol Obstet Mex* 2008;76(1):3-8. La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.actualizacionmedica.com.mx

las membranas corioamnióticas. Hace relativamente poco tiempo se demostró que el trabajo de parto se asocia con el desarrollo de respuesta inflamatoria y con incremento de todas las señales vinculadas; por ello ahora se considera que, al menos, una parte de la activación de este proceso depende del sistema inmunológico.^{9,10} Existen suficientes demostraciones que apoyan el papel de las citocinas inflamatorias en la patogenia del trabajo de parto pretérmino y se ha comprobado el aumento de concentraciones de la mayor parte de las citocinas en el líquido amniótico, incluidas IL-1 β ,¹¹ TNF- α ,¹² IL-6,¹³ IL-8,¹⁴ MIP-1 e IL-4.¹⁵

Estos mediadores han sido objeto de estudio en la última década y diferentes autores han propuesto la cuantificación de algunas de estas moléculas para calcular el riesgo de infección intrauterina o el propio de parto pretérmino. Sin embargo, no se ha estudiado la expresión de estas citocinas en el trabajo de parto normal. En este trabajo se propone reconstruir la secuencia de evolución de expresión de la IL-6 en el trabajo de parto normal.

MATERIAL Y MÉTODO

Las muestras de exudado cervicovaginal se obtuvieron de pacientes que acudieron a consulta de control prenatal o al servicio de urgencias del Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes (INPerIER). Se incluyeron todas las pacientes que al momento de la toma de la muestra tuvieran edad gestacional entre 20 y 40 semanas, sin complicaciones médicas u obstétricas mayores, como diabetes mellitus, diabetes gestacional o infección genitourinaria. Se solicitó, por escrito, su aceptación a participar en el protocolo de investigación.

Para documentar la actividad uterina, las modificaciones cervicales y el estado fisiológico de las membranas, las variables secundarias y confusoras necesarias para el análisis de los resultados se elaboró una hoja con la historia clínica obstétrica. De acuerdo con la información asentada en el expediente, las muestras se clasificaron en cualquiera de cinco estadios clínicos que reproducen la secuencia del perfil de activación del trabajo de parto humano.

Criterios de inclusión

Cada grupo se integró considerando las siguientes características:

- Estadio 0: muestras de pacientes con edad gestacional entre 18 y 34 semanas, sin actividad uterina, sin cambios cervicales y con membranas fetales intactas. Este estadio representa la ausencia completa de trabajo de parto.
- Estadio 1: muestras de pacientes con irritación uterina mínima (definida por la paciente como eventos esporádicos de contracciones), sin cambios cervicales y membranas fetales intactas.
- Estadio 2: muestras de pacientes con irritación uterina mínima (≤ 1 evento/30 minutos) y cambios cervicales iniciales con dilatación menor a 2 cm, sin borramiento y membranas fetales intactas.
- Estadio 3: muestras de pacientes con actividad uterina irregular (≤ 2 eventos/30 min.), cambios cervicales intermedios (dilatación 1-3 cm) y membranas fetales intactas.
- Estadio 4: muestras con trabajo de parto avanzado, con contracciones uterinas efectivas y regulares, con cambios cervicales avanzados (dilatación >3 cm) y membranas fetales intactas.

Criterios de exclusión y eliminación

Se excluyeron las pacientes con demostración clínica de infección cervicovaginal y se eliminaron las que resultaron positivas a infección luego de un cultivo microbiológico del exudado cervicovaginal. Las pacientes que refirieron haber tenido relaciones sexuales en las 24 h previas también se excluyeron.

Exudado cervicovaginal

Para la toma de la muestra se utilizó un hisopo de dacrón estéril y un tubo de transporte con 1 mL de amortiguador (Tris-base 0.05M, NaCl 0.15M, BSA 1%, Tween-20 al 0.1%). El hisopo se frotó en el fondo del saco de Douglas, auxiliándose con un espejo vaginal lubricado con solución salina, e inmediatamente después se sumergió el hisopo en la solución amortiguadora de extracción, durante el transporte se almacenó a 4°C. El extracto del tubo se centrifugó a 2000 rpm x g, a 4°C durante 15 minutos, para precipitar el material particulado y

se colectó el sobrenadante; la muestra se conservó a -20°C , hasta su análisis.

Determinación de IL-6

La detección y cuantificación de citocinas se realizó con el sistema de detección múltiple de moléculas en suspensión Bio-Plex (Bio-Rad, Hercules, Cal.). El principio del método consiste en la combinación de dos técnicas: el ELISA que atrapa una proteína entre dos anticuerpos (uno de captura adherido a una superficie sólida y otro de detección que se marca con biotina), ambos anticuerpos específicos se unen mutuamente en sitios exclusivos de la proteína. La segunda técnica es la citometría de flujo, que puede separar y cuantificar células marcadas con fluorocromos, a partir de una mezcla. Las células se aspiran y su separación se realiza al incidir sobre cada una de ellas diferentes láser, que determinan el tamaño, granularidad o si las células están marcadas; con esto se realiza la detección, determinación y tamaño. Cada grupo de esferas muestra tonalidades idénticas para que una vez cubiertas con el anticuerpo monoclonal de captura puedan separarse al momento de la lectura. Siguiendo las recomendaciones del fabricante se utilizó una microplaca de 96 pozos y se colocaron $50\ \mu\text{L}$ /pozo del cóctel de microesferas conjugadas con anticuerpos monoclonales específicos contra IL-6. Enseguida se agregaron $50\ \mu\text{L}$ /pozo de cada uno de los estándares y de las muestras de exudado cervicovaginal; se dejaron en incubación durante una hora a temperatura ambiente con agitación constante de 500 rpm. La detección de la proteína se realiza con un cóctel de anticuerpos policlonales marcados con biotina, se agregan $25\ \mu\text{L}$ /pozo del cóctel y se deja en incubación durante una hora en las condiciones descritas. Enseguida se utiliza una molécula reportera, con marcaje fluorescente (estreptavidina-ficoeritrina) y $50\ \mu\text{L}$ /pozo de la dilución y se deja, nuevamente, en incubación durante 30 minutos. Por último, las microesferas se resuspenden en $125\ \mu\text{L}$ de amortiguador de ensayo, con agitación de 1100 rpm durante 30 segundos; entre cada uno de los pasos se realizan tres lavados por aspiración, con solución amortiguadora de lavado. La lectura de la placa se realiza en plataforma Luminex (Bio-Plex de Bio-Rad), en donde las esferas se aspiran para hacerlas pasar

por un canal en donde cada una es incidida por dos diferentes láser. El primero, en rojo, excita la esfera y detecta el código de la misma, discriminando entre una molécula y otra; el segundo láser (verde) excita el marcaje fluorescente y, de esta forma, cuantifica la señal emitida por cada una de las esferas. El equipo cuenta con un software de análisis que permite la utilización de métodos de regresión de cinco parámetros que dan como resultado la concentración en pg/mL de la IL-6.

En cada estadio las concentraciones se compararon con ANOVA y se aceptaron diferencias significativas con el valor de $p < 0.05$.

RESULTADOS

De acuerdo con los criterios de inclusión descritos se incluyeron 173 muestras de exudado cervicovaginal, 48 de ellas se agruparon en el estadio 0; 22 en el estadio 1, 34 en el estadio 2, 41 para el estadio 3 y 28 en el estadio 4.

A cada una de las muestras se le determinó la concentración de IL-6 (figura 1). Se apreció que en el estadio 0 la secreción de la citocina fue mínima, pero detectable en la mayor parte de las muestras; aunque es posible observar el incremento a partir de los primeros indicios de inicio de actividad uterina, sólo es diferente estadísticamente del estadio 0 al 1. Sin embargo, el aumento en la secreción de la citocina fue muy considerable hacia el estadio 4, luego de haberse iniciado el trabajo. Al comparar el estadio 0 contra el estadio 4 el valor fue de $p=0.000$ y la comparación del estadio 3 y 4 de $p=0.009$.

DISCUSIÓN

Una de las citocinas más estudiadas en relación con el trabajo de parto pretérmino es la IL-6, debido a su fuerte asociación clínica con la infección intrauterina y el inicio del parto pretérmino. Puesto que se trata de una molécula amplificadora de la respuesta inflamatoria, durante el embarazo se le ha relacionado de manera directa con infecciones del aparato reproductor. La mayor parte de los estudios reportados en la bibliografía se orientan al papel de la IL-6 en la respuesta a la infección;

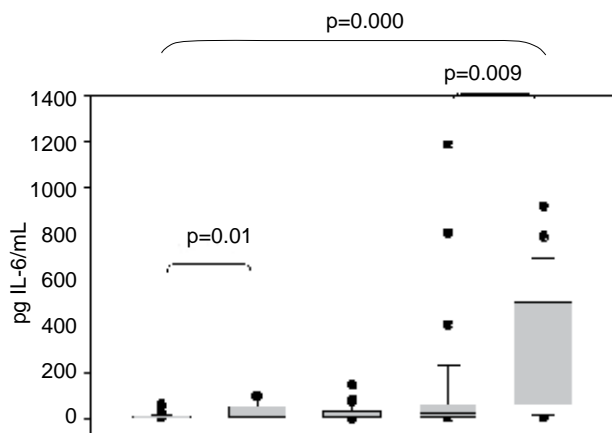


Figura 1. Perfil de secreción de IL-6 durante los cuatro estadios de evolución del trabajo de parto. Las cajas representan la mediana y los percentiles 25-75, las barras muestran los percentiles 5-95. En el estadio más avanzado en actividad se observa un importante incremento en la secreción de IL-6. En los estadios anteriores (1-3) no existen diferencias en la secreción. La gráfica muestra los estadios en que se detectan diferencias significativas en $p < 0.05$.

sin embargo, no existe suficiente información de su comportamiento en el desarrollo del trabajo de parto normal. En nuestro estudio demostramos que existe una correlación estrecha entre el desarrollo del parto efectivo y la expresión de la citocina en el exudado cervicovaginal, en ausencia de infección y utilizando una reconstrucción de la secuencia progresiva del trabajo de parto. La mayor parte de los trabajos previos se enfocan a la medición de la concentración de la citocina alrededor del inicio del trabajo de parto. Hasta la fecha no se había dejado constancia del cambio que nosotros mostramos en este trabajo y que permite reforzar el concepto de que la IL-6 forma parte de la cadena de eventos que acompañan al desencadenamiento del trabajo de parto en el humano.

En la clínica obstétrica es de vital importancia la detección oportuna del trabajo de parto pretérmino, el tratamiento del mismo y el pronóstico para ese embarazo en particular. En este último contexto es primordial anticipar los embarazos en que a pesar del tratamiento adecuado prevalezca el riesgo de nacimiento pretérmino a corto y mediano plazo, debido a que en estos casos deben dirigirse todos los recursos

humanos y materiales para poner a la paciente y al feto en las mejores condiciones, en caso de que el curso del embarazo evolucione hacia un nacimiento pretérmino.

Cuando la paciente tiene antecedentes de parto pretérmino y busca atención médica, el clínico se enfrenta al problema de discernir si debe hospitalizarla para tratamiento y vigilancia del embarazo por el alto riesgo de nacimiento pretérmino en las siguientes 24 a 48 h o puede tratarla con éxito en el servicio de urgencias y enviarla a su domicilio para continuar la vigilancia de su embarazo como externa. Muchas veces esta decisión se basa en criterios subjetivos y en la experiencia anecdótica del médico, no en experiencias científicas probadas. Ésta es una de las razones por la que deben buscarse herramientas nuevas que permitan al clínico contar con elementos para fundamentar la toma de sus decisiones. La caracterización del perfil de la IL-6 puede ser el primer paso para diseñar protocolos de investigación y evaluar su probable utilidad clínica para distinguir casos reales de trabajo de parto pretérmino inminente.

REFERENCIAS

1. Simpson RJ, Hammacher A, Smith DK, Matthews JM, Ward LD. Interleukin-6: Structure-function relationships. *Protein Science* 1997;6:929-55.
2. Sehgal PB, Grieninger G, Tosato G. Regulation of the acute phase and immune responses: interleukin-6. *Ann NY Acad Sci* 1989;557:1-583.
3. Hirano T. Interleukin-6. In: Thomson A, Lotze M, editors. *The cytokine handbook*. 4th ed. San Diego (CA): Academic Press, 2003;pp:197-228.
4. Dudley DJ, Trautman MS, Edwin SS, Lundin-Schiller S, Mitchell MD. Biosynthesis of interleukin-6 by cultured human chorion laeve cells: regulation by cytokines. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:1081-6.
5. Fortunato SJ, Menon RP, Swan KF, Menon R. Inflammatory cytokine (interleukins 1, 6 and 8 and tumor necrosis factor-alpha) release from cultured human fetal membranes in response to endotoxic lipopolysaccharide mirrors amniotic fluid concentrations. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1855-61; discussion 1861-2.
6. Romero R, Avila C, Santhanam U, Sehgal PB. Amniotic fluid interleukin 6 in preterm labor. *J Clin Invest* 1990;85:1392-400.
7. Lange M, Chen FK, Wessel J, Buscher U, Dudenhausen JW. Elevation of interleukin-6 levels in cervical secretions as a predictor of preterm delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2003;82: 326-29.
8. Challis JRG, Sloboda DM, Alfaidy N, Lye SJ, et al. Prostaglan-

- dins and mechanisms of preterm birth. *Reproduction* 2002;124:1-17.
9. Grenache DG, Hankins K, Parvin CA, Gronowski AM. Cervicovaginal interleukin-6, tumor necrosis factor- α and interleukin-2 receptor as markers of preterm delivery. *Clinical Chemistry* 2004;50(10):1839-42.
 10. Mitchell MD, Edwin S, Romero RJ. Prostaglandin biosynthesis by human decidual cells: effects of inflammatory mediators. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1990;41:35-38.
 11. Romero R, Brody DT, Oyarzun E, Mazor M, et al. Infection and labor. III. Interleukin-1: a signal for the onset of labor. *Am J Obstet Gynecol* 1989;160:1117-23.
 12. Romero R, Mazor M, Sepulveda W, Avila C, et al. Tumor necrosis factor in preterm and term labor. *Am J Obstet Gynecol* 1992;166:1576-87.
 13. Dudley DJ, Hunter C, Mitchell MD, Varner MW. Clinical value of amniotic fluid interleukin-6 determinations in the management of preterm labor. *Br J Obstet Gynecol* 1994;101:592-7.
 14. Jacobson B, Mattsby-Baltzer I, Hagberg H. Interleukin-6 and interleukin-8 in cervical and amniotic fluid: relationship to microbial invasion of the chorioamniotic membranes. *BJOG* 2005;112(6):719-24.
 15. Dudley DJ, Hunter C, Varner MW, Mitchell MD. Elevation of amniotic fluid interleukin-4 concentrations in women with preterm labor and chorioamnionitis. *Am J Perinatol* 1996;13(7):443-7.

En el parto espontáneo todo está dispuesto para que la asepsia de los órganos internos perdure. El feto, el líquido amniótico y la placenta, que vienen de regiones asépticas, producen a su paso un verdadero barrido de las vías genitales. Al revés, la mano que explora y los instrumentos pueden siempre hacer penetrar en las vías vaginales gérmenes que pululen en la vulva.

Reproducido de: Fabre. Manual de obstetricia. Barcelona: Salvat Editores, 1941;p:180.