

11217



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA

"CONCENTRACIONES DE CITOCINAS PROINFLAMATORIAS EN LOS  
COMPARTIMENTOS MATERNO, FETAL Y RETROPLACENTARIO  
EN LA RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS"

T E S I S

RBA

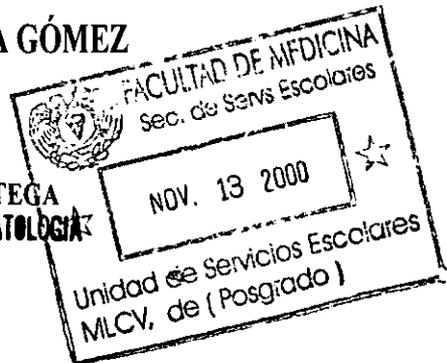
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
ESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

PRESENTA:

DRA. CRISTINA ARTEAGA GÓMEZ

ASESOR:

DR. FELIPE ADILLO ORTEGA  
INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA



DIRECCION DE ENSEÑANZA  
MÉXICO, D.F.,

2000



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.

***“Para realizar un gran sueño,  
lo primero que hace falta  
es una gran aptitud para soñar  
después, persistencia  
que es la fé en el sueño de uno”***

**al Instituto Nacional de Perinatología**

**a mis Maestros**

**a mis pacientes**

**a mi madre Cipriana Arteaga Gómez  
a mi tía Margarita Arteaga Gómez  
a mi tío Francisco Arteaga Gómez (f)**

## INDICE

CONTENIDO	PAGINA
TITULO	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODOS	27
RESULTADOS	35
DISCUSION	43
BIBLIOGRAFIA	46

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**

**INSITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA**

**TESIS PARA OBTENER EL TITULO DE MEDICO ESPECIALISTA EN  
GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA**

**TITULO:**

**CONCENTRACIONES DE CITOCINAS PROINFLAMATORIAS EN  
COMPARTIMENTOS MATERNO FETAL Y RETROPLACENTARIO EN LA  
RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS**

**TESISTA.**

**DRA. ANA CRISTINA ARTEAGA GOMEZ**

**ASESOR**

**DR. FELIPE VADILLO ORTEGA**  
Director de Investigación.  
Instituto Nacional de Perinatología

**COASESORES**

**Dr. Carlos Neri Méndez**  
Subdirector de Educación Profesional INPer  
**Dr. César Hernández Guerrero**  
Investigador titular INPer  
**Dr. Tomás Herrerías Cañedo**  
Jefe del Departamento de Tococirugía INPer  
**Dr. Jorge Beltrán Montoya**  
Médico adscrito al Departamento de Obstetricia INPer

## **Introducción**

**Aspectos clínicos.** Los mecanismos de inicio y control del trabajo de parto humano normal son aún poco entendidos y como una consecuencia directa, la comprensión de la fisiopatogenia de la ruptura prematura de membranas y del parto pretérmino es igualmente escasa; por esta razón, el manejo y prevención de estas patologías del embarazo permanecen sin cambios desde hace varias décadas <sup>1</sup>.

Aunque desconocemos el eje que desencadena el trabajo de parto, es posible reconocer que para llevarlo adelante participan diferentes subsistemas que al actuar de modo secuencial y/o sincrónico y comunicados por una red de señalización, terminan en la expulsión del producto y sus anexos. Los subsistemas más relevantes para este proceso se integran con la actividad del miometrio, la maduración cervical y la ruptura de las membranas fetales <sup>2-3</sup>.

La ruptura prematura de membranas (RPM) constituye una evidencia clínica que corrobora la existencia de mecanismos independientes que al activarse reproducen una sola de las fases del trabajo de parto, con ausencia de las manifestaciones de los demás subsistemas mencionados arriba.

En el caso de la RPM las manifestaciones se caracterizan por disolución de las membranas fetales o corioamnios en ausencia de otros eventos del trabajo de parto. En contraste la historia natural del trabajo de parto muestra que las membranas corioamnióticas se rompen de modo tardío, en las fases 2 y 3 y son precedidas en la mayor parte de las mujeres, de contracciones uterinas y de dilatación cervical <sup>1</sup>.

En la visión explicativa más antigua de la RPM Hipócrates propuso que “..el producto se abría paso a través de sus membranas..”. Más tarde y por muchos años, prevaleció la explicación de la RPM como consecuencia de la actividad uterina normal (contracciones de Braxton-Hicks) actuando sobre estructuras debilitadas. Sin embargo, a lo largo de los últimos años se ha conformado un panorama explicativo más complejo que nos permite entender el origen multifactorial de la RPM. La relevancia de la RPM como problema de salud, dada su frecuencia y complicaciones asociadas, ha ameritado gran número de estudios encaminados a identificar la fisiopatogenia y eventualmente intervenir en la historia natural de la enfermedad. El avance de esta área ha permitido generar sistemas para establecer el riesgo de desarrollar RPM basados en el nivel socioeconómico, hábitos reproductivos, hábitos higiénicos y complicaciones del embarazo <sup>4-5-6-50</sup>.

El hecho de que la prevalencia alta de RPM se ha relacionado con condiciones ambientales adversas, permite suponer que el estrato socioeconómico y cultural más desprotegido contiene determinantes que favorecen la aparición de esta complicación del embarazo. Esta es la explicación que se ha dado a la frecuencia alta de RPM y parto pretérmino en México y otros países con características demográficas parecidas. La identificación de estos determinantes nos permitiría eventualmente incidir en la prevalencia de la RPM <sup>7</sup>.

Como se definió antes, se llama ruptura prematura de las membranas (RPM) a la pérdida de continuidad espontánea del corioamnios antes del inicio del trabajo de parto. Cuando ocurre antes de la semana 37 de gestación es usualmente referida como ruptura prematura de membranas pretérmino (RPMP) y es la causa principal identificada de parto pretérmino <sup>8-9-6</sup>. Algunos autores señalan la necesidad de separar la RPM en estos dos estratos de acuerdo a la perspectiva clínica que tienen y así, se distingue a la RPM pretérmino y a la RPM de término. Esta última solo representa una curiosidad biológica ya que ante embarazos de término con productos maduros, solo resta manejo expectante y en la minoría de los casos, la inducción del trabajo de parto si este no aparece espontáneamente.

El verdadero problema clínico y que constituye la justificación de separar estos dos grupos, es la RPM con embarazos pretérmino. En este trabajo no se hacen distinciones en estos estratos y se engloba el espectro completo de pacientes afectadas por RPM <sup>10</sup>.

La prevalencia de RPM se observa en el 2.7 al 17% del total de embarazos y en la mayoría de los casos sucede sin causa explicativa aparente. Una vez que aparece la RPM, el 70% de las pacientes desarrollarán trabajo de parto en las 24 horas siguientes, y el 95% dentro de las 72 horas siguientes al evento. El período de latencia, que se define como el lapso desde la ruptura de las membranas hasta el momento del parto, disminuye inversamente con el avance de la edad gestacional <sup>11-3</sup>.

La prematurez es la causa más importante de morbimortalidad neonatal en los embarazos complicados con RPM, las complicaciones asociadas más significativas incluyen el síndrome de dificultad respiratoria, hemorragia intraventricular, enterocolitis necrotizante, persistencia del conducto arteriovenoso, retinopatía y sepsis. Las complicaciones a largo plazo incluyen enfermedad pulmonar crónica, alteraciones neurológicas (parálisis cerebral, ceguera), síndrome de intestino corto y retraso en el desarrollo <sup>12-13</sup>.

Las pacientes con RPM tienen riesgo incrementado para infección intrauterina, que es dependiente de la edad gestacional y que se manifiesta con prevalencia de corioamnioitis del 10 al 40%. Las complicaciones asociadas más comunes incluyen hospitalización prolongada, sepsis y raramente muerte materna <sup>14-15</sup>.

El manejo de la RPM cuando ocurre entre la semana 34-37 es controversial y existen dos alternativas, la inducción del trabajo de parto ó el manejo expectante. La inducción del trabajo de parto antes de las 32 horas reduce la morbilidad materno/neonatal, sin embargo, este procedimiento dependerá de la edad gestacional. Cuando la RPM se presenta antes de la semana 34, en ausencia de infección, sin trabajo de parto y sin compromiso fetal, el manejo es expectante y la terapéutica empleada más común, es el uso de antibióticos y glucocorticoides <sup>16-17-51</sup>. Se ha demostrado en varios estudios, la utilidad de ésta combinación para prolongar la edad gestacional y prevenir la morbilidad materno-fetal y neonatal; el objetivo del tratamiento con antibióticos es reducir las complicaciones neonatales relacionadas a la prematuridad y la infección intrauterina <sup>18</sup>. Una de las preocupaciones importantes en el manejo expectante de la RPM son los efectos fetales del oligohidramnios a corto y largo plazo.

Otras complicaciones asociadas son el desprendimiento placentario (4.8-6.8%), la hipoplasia pulmonar neonatal, la compresión del cordón umbilical que causa hipoxemia fetal y las anomalías anatómicas fetales.

El desprendimiento de placenta se complica a su vez con hemorragia, hipovolemia, coagulopatía y muerte fetal <sup>18</sup>. Esta complicación disminuye al avanzar la edad gestacional ya que complica el 50% de los casos antes de las 20 semanas, disminuye a 44% cuando la gestación está entre las 20-24 semanas, baja al 30% entre las 25-28 semanas y se reduce al 13% cuando el embarazo está entre las 29 y 32 semanas <sup>19-10-52</sup>. En general se considera que el aumento del riesgo de complicaciones no es una razón para abandonar el manejo expectante de la RPM.

Desgraciadamente en la historia natural de la RPM el inicio del trabajo de parto es rápido a pesar de su manejo expectante y siempre se tiene en mente que un período de latencia prolongado, favorece la infección ascendente posterior, es en este punto donde el uso de los antibióticos para la infección subclínica intrauterina y su uso para profilaxis, han mostrado su utilidad mayor para reducir la morbilidad asociada tanto para la madre como para el producto <sup>20-21</sup>.

El tratamiento con antibióticos en la RPM debe estar dirigido a un amplio espectro de bacterias y micoplasmas genitales y proveer concentraciones adecuadas y rápidas en el líquido amniótico y la decidua. En este sentido, las recomendaciones de manejo con antimicrobianos más comunes, incluyen a las penicilinas y cefalosporinas, que ofrecen cobertura para Gram positivos y negativos, así como contra algunas bacterias anaerobias <sup>21</sup>. La eritromicina es bacteriostática contra microorganismos Gram positivos y Ureaplasma pero no contra Gram negativos. La clindamicina y el metronidazol son bactericidas contra anaerobios y Gram negativos mientras que la gentamicina tiene actividad antibacteriana de amplio espectro contra Gram negativos. La eficacia de estos antibióticos está relacionada directamente con el nivel de penetración a los tejidos blandos pélvicos, decidua y líquido amniótico. Las concentraciones de amoxicilina, cefradina y cefoxitina en el líquido amniótico, a las 2-4 horas de su administración, sobrepasan las concentraciones maternas <sup>22-23-24-25</sup>.

**Estructura de las membranas fetales.** El substrato de daño en la RPM es el corioamnios, que es un tejido con estructura relativamente simple, compuesta por pocas poblaciones celulares y contenido alto de matriz extracelular.

Esta composición característica se ha relacionado con su función protectora del feto a lo largo de la gestación y es por ello, que es el componente principal del saco gestacional <sup>26</sup>.

El amnios humano está constituido por 5 capas distintas, no contiene vasos sanguíneos ni nervios, los nutrimentos que requiere son aportados por el líquido amniótico y por la difusión desde la decidua materna. La capa más profunda y cercana al feto es el epitelio amniótico. Las células epiteliales amnióticas secretan colágena tipo III y IV y glicoproteínas no colagénicas (laminina, nidogeno y fibronectina) que forman la siguiente capa del amnios ó membrana basal. La capa compacta de tejido conectivo adyacente a la membrana basal forma el esqueleto fibroso principal del amnios. Las colágenas de la capa compacta son secretadas por las células mesenquimatosas en la capa fibroblástica. Las colágenas intersticiales tipo I y III predominan en este sitio y forman bandas paralelas que mantienen la integridad mecánica del amnios. Las colágenas tipo V y VI forman conexiones filamentosas entre las colágenas intersticiales y la membrana basal epitelial. La capa fibroblástica es la más gruesa de las capas histológicas del amnios y consiste de células mesenquimatosas y macrófagos dentro de una matriz extracelular.

Las colágenas en esta capa forman una malla laxa con islas de glicoproteínas no colagénicas. La capa intermedia, llamada también zona esponjosa, descansa entre el amnios y el corion, contiene abundantes proteoglicanos hidratados y glicoproteínas, y posee una red no fibrilar de colágena tipo III. La capa intermedia absorbe el estrés físico permitiendo al amnios deslizarse sobre el corion el cual está firmemente adherido a la decidua materna.

Aunque el corion es más grueso que el amnios, el amnios tiene mayor fuerza tensil. El corion recuerda una membrana epitelial típica con su polaridad dirigida hacia la decidua materna. Conforme el embarazo progresa las vellosidades trofoblásticas dentro de la capa coriónica de las membranas fetales involucionan. Debajo de la capa del citotrofoblasto (cercana al feto) están la membrana basal y el tejido conectivo del corion, los cuales son ricos en fibras de colágena.

Las membranas fetales exhiben variación regional que las distingue de las membranas que cubren la placenta <sup>26-27</sup>.

### **Fisiología de la ruptura prematura de las membranas.**

Tradicionalmente la ruptura de las membranas se ha atribuido a estrés físico, particularmente el asociado con el trabajo de parto.

Recientemente hay evidencias que sugieren que la ruptura de las membranas está relacionada con procesos bioquímicos incluyendo ruptura de la colágena dentro de la matriz extracelular del amnios y el corion y muerte programada de las células en las membranas fetales<sup>28-19</sup>. Se ha propuesto que las membranas fetales y la decidua responden a varios estímulos, incluyendo estiramiento mecánico e infección del tracto reproductivo, produciendo mediadores como prostaglandinas, citocinas y hormonas proteicas que modulan otra serie de respuesta funcionales en el tejido y que incluyen la síntesis de señales secundarias (otras citocinas), enzimas que degradan tejido conectivo, etc<sup>29-18</sup>. La ruptura intraparto de las membranas fetales ha sido atribuida a un debilitamiento generalizado debido a contracciones uterinas repetidas. En apoyo a la posibilidad de que el debilitamiento intrínseco de las membranas conduzca a su ruptura, algunos autores han demostrado que la fuerza tensil de las membranas está reducida en especímenes obtenidos después del trabajo de parto, en comparación con la fuerza exhibida por membranas obtenidas durante cesárea<sup>30-29</sup>. La debilidad generalizada de las membranas hace más difícil establecer cuando las membranas se rompen prematuramente y se ha comparado con membranas que fueron rotas artificialmente durante el trabajo de parto<sup>31</sup>.

Las membranas que se rompen prematuramente parecen tener daño focal, mas que generalizado. El área cerca del sitio de la ruptura se ha descrito como una zona restringida con morfología alterada, caracterizada por edema marcado y ruptura de la malla fibrilar de colágena dentro de las capas compacta, fibroblástica y esponjosa. A pesar de algunas divergencias entre la RPM y la ruptura intraparto de las membranas, hay poca evidencia para sugerir que los mecanismos que predisponen a la mujer a lo primero no son idénticos a los que preceden normalmente el trabajo de parto. Esto ha llevado a proponer que la RPM representa una aceleración ó exageración del proceso que precipita la ruptura espontánea de las membranas durante el trabajo de parto <sup>27</sup>.

El mantenimiento de la fuerza tensil de las membranas fetales parece involucrar un equilibrio entre la síntesis y la degradación de los componentes de la matriz extracelular. Se ha propuesto que cambios en las membranas que incluyen disminución en el contenido de colágena, alteración de la estructura y actividad colagenolítica aumentada están asociados con la RPM <sup>19</sup>. Durante la gestación humana normal la síntesis de colágena estimada por la concentración tisular de procolágena I y III y por la cantidad de RNAm de colágena es mayor en el inicio del embarazo que en el tercer trimestre.

De modo similar la concentración en el tejido amniótico de la lisil-oxidasa, una enzima dependiente de  $\text{Cu}^{2+}$  y que es responsable de la formación de uniones intercadenas que da por resultado la formación de fibras de colágena, es muy alta antes de las 20 semanas y disminuye abruptamente después.

El contenido de colágena, medido a través de la concentración tisular de hidroxiprolina de las membranas también disminuye con la edad gestacional después de las 20 semanas de gestación. Estos cambios probablemente reflejan el momento en que las membranas detienen su crecimiento y pueden ser relacionados con la disminución de la fuerza tensil de las membranas que se ha observado, conforme avanza la edad gestacional. Esto también sugiere que la síntesis y unión de la colágena y consecuentemente la fuerza tensil de las membranas disminuye después de las 20 semanas de gestación.

Esto genera un periodo de vulnerabilidad en el que las membranas estarán más predispuestas a la ruptura bajo la influencia de factores que alteran la síntesis de colágena o aceleren su degradación<sup>27-31</sup>.

Es lógico asumir que la alteración en la función de la colágena o de su contenido afectará la fuerza tensil de la membranas y será necesaria para que ocurra la ruptura prematura.

La degradación de la colágena es el resultado de la actividad secuencial y concertada de varias metaloproteinasas de matriz extracelular, un grupo de enzimas que son sintetizadas como proenzimas y activadas por la eliminación de una porción de su secuencia amino-terminal ó propéptido <sup>32</sup>.

Las metaloproteinasas tienen diferentes substratos, así la MMP-1 y la MMP-8, degradan la estructura de triple hélice de la colágena I y II, en tanto que la MMP-2 y la MMP-9, también llamadas gelatinasas, digieren la colágena IV, la fibronectina, los proteoglicanos y las cadenas de colágena producidas por la actividad del MMP-1 y el MMP-8. Las metaloproteinasas se unen a inhibidores tisulares específicos, denominados TIMPs. El TIMP-1 se une a la MMP-1, 8 y 9. El TIMP-2 se une con afinidad grande a la MMP-2.

La colagenolisis resulta de un desequilibrio entre estas moléculas, con predominio de MMPs sobre TIMPs. Durante las primeras fases del embarazo normal, hay concentración alta de TIMP-I y actividad mínima de MMP-1 y MMP-9 en las membranas amnióticas. Esta situación cambia dramáticamente durante el trabajo de parto, cuando la MMP-1 y la MMP-9 aumentan y el TIMP-1 disminuye. La actividad de la MMP-9 es también expresada en las membranas de mujeres con corioamnioitis.

Las concentraciones tisulares elevadas de MMP-1 y MMP-9 durante el trabajo de parto resultan en un aumento significativo en los niveles plasmáticos de estas enzimas. Los niveles plasmáticos de MMP-1 pero no de MMP-9 están también elevados antes del nacimiento pretérmino. Algunas sustancias tienen la capacidad de alterar el equilibrio entre enzimas e inhibidores y causar actividad colagenolítica aumentada entre éstas están la relaxina, diferentes citocinas, algunas prostaglandinas y compuestos no identificados como aquellos contenidos en el eyaculado humano <sup>33-34</sup>. Es también posible que las lesiones vasculo-trombóticas placentarias, que suceden en aproximadamente el 40% de las pacientes con RPM, puedan ser otro activador decidual que lleve a la producción de diversas moléculas mediadoras y alteración eventual de la matriz extracelular.

Existe evidencia bioquímica y morfológica que indica que la alteración de los elementos responsables de la fuerza tensil de las membranas es necesaria para que ocurra la RPM. Se ha comparado el contenido de colágena I, III y V en mujeres con parto a término y pretérmino con RPM y pretérmino por otras causas encontrando en las pacientes con RPM reducción de esos tipos de colágena y del contenido total de esta proteína.

Este cambio en el contenido es probablemente el responsable de la disminución del grosor de las membranas observadas en pacientes con RPM que es de 0.54mm, comparado con los grupos control sin RPM de 0.74mm.

La actividad in vitro de MMP-1 ó colagenasa intersticial, está significativamente aumentada por las relaxinas H1 y H2. Estas relaxinas producen un aumento dosis dependiente en la actividad de ésta metaloproteinasa en membranas humanas.

La relaxina se expresa a las 7 semanas y tiene un pico entre las 12.5 y 14.4 semanas con un pico placentario doble que el pico decidual.

La expresión de relaxina es significativamente mayor en la decidua de mujeres con RPM que en mujeres sin trabajo de parto ni RPM.

El análisis histoquímico ha mostrado sobreexpresión generalizada de relaxina en mujeres con RPM pretérmino no así, en pacientes sin trabajo de parto ó embarazo pretérmino sin ruptura <sup>35-31</sup>.

A partir de la descripción de Knox et al en el año de 1950 ha ganado popularidad la hipótesis del origen infeccioso de la RPM <sup>21</sup>. La aceptación amplia de esta hipótesis obedece a que la información acumulada alrededor del tema tiene sentido biológico pues, parece claro

que el arribo de microorganismos a las membranas corioamnióticas podría debilitar su estructura por efecto directo o a través del proceso inflamatorio consecuente <sup>36-37</sup>. Por otro lado, diferentes autores han encontrado asociación entre la presencia de infección cervico vaginal y/o intrauterina y el desarrollo de RPM, mostrando cierta consistencia en la asociación. Aunque ha sido más difícil llegar a una conclusión, se han realizado varios estudios que exploran la congruencia temporal entre la infección intrauterina y la RPM <sup>38</sup>.

La identificación de microorganismos patológicos en la flora vaginal tan pronto como ocurre la RPM apoya el concepto de que la infección bacteriana puede jugar un rol en la patogénesis de la misma. La infección ascendente de las membranas por bacterias que normalmente existen en la vagina son el mecanismo de afección en aproximadamente 40-50% de todos los pacientes con RPM <sup>39</sup>. Las bacterias más comúnmente asociadas con RPM son *Escherichia coli*, *Streptococcus* del grupo B, *U.urealyticum*, *Gardnerella* sp, *Chlamydia trachomatis* y bacterias aeróbicas y anaerobias <sup>19-54</sup>. La infección intrauterina puede predisponer a la RPM a través de diferentes mecanismos cada uno de los cuales induce degradación de la matriz extracelular.

Varios organismos que normalmente están en la flora vaginal secretan proteasas que pueden degradar la colágena y debilitar las membranas fetales. La respuesta inflamatoria del huésped a la infección bacteriana constituye otro mecanismo potencial para la RPM. La respuesta inflamatoria es mediada por macrófagos y neutrófilos que son reclutados en el sitio de la infección produciendo citocinas, metaloproteinasas y prostaglandinas <sup>40-37</sup>.

Las citocinas inflamatorias incluyendo interleucina-1 y el factor de necrosis tumoral- $\alpha$ , son producidos por monocitos estimulados y estas citocinas aumentan la expresión, con aumento de transcripción, de MMP-1, MMP3 y MMP-9 en células derivadas de corion humano. La infección puede generar productos secretores por activación de macrófagos (monocinas) incluyendo interleucina-1, factor de necrosis tumoral e interleucina-6. La primera monocina implicada en el inicio del trabajo de parto aunado a un proceso infeccioso fue la interleucina-1. (1). La interleucina-1 estimula la producción de prostaglandinas por el amnios y la decidua in vitro. (2)

La decidua humana puede producir interleucina-1 in vitro en respuesta a productos bacterianos. (3)

Las concentraciones y bioactividad de la interleucina-1 en el líquido amniótico están elevadas en pacientes con parto pretérmino y corioamnioitis pero la interleucina-1 no está presente en el líquido amniótico de pacientes con parto pretérmino sin infección. (4) Entre las pacientes con RPM y corioamnioitis la bioactividad y concentración de interleucina-1 en el líquido amniótico son mayores en pacientes con trabajo de parto indicando que no es la presencia de los microorganismos por si misma si no la respuesta del huésped que es asociada con el parto. (5) La perfusión in vitro del útero humano con interleucina-1 estimula la contractilidad uterina. 6) La administración de interleucina-1 en ensayos animales ocasiona aborto y parto pretérmino

33

El factor de necrosis tumoral, una citocina liberada durante la activación de macrófagos es también capaz de estimular la producción de prostaglandinas por varios tipos celulares. Los datos que apoyan el rol del factor de necrosis tumoral en la corioamnioitis incluye: (1) Estimula la producción de prostaglandina in vitro por el amnios y la decidua. (2) Se produce en la decidua humana en respuesta a productos bacterianos. 3) Está ausente en el líquido amniótico normal, pero presente en el líquido amniótico de pacientes con corioamnioitis y parto pretérmino.

(4) Puede inducir parto pretérmino cuando se administra a ratas embarazadas. La interleucina-6 es también un mediador mayor de la respuesta del huésped a la infección. Es producida por una variedad de células que incluyen macrófagos y células estromales endometriales. El mayor cambio en el estado bioquímico, fisiológico e inmunológico del huésped ocurre por la interleucina-6, incluyendo la fase aguda de la respuesta de proteínas plasmáticas y la inducción de otras citocinas tales como interleucina -1 y factor de necrosis tumoral. Las mujeres con parto pretérmino más corioamnioitis tienen mayores niveles de interleucina-6 en el líquido amniótico que mujeres con parto pretérmino sin corioamnioitis <sup>34</sup>. El factor estimulante de colonias de macrófagos es una citocina que es capaz de regular el número de macrófagos y su nivel de activación, es producido por la decidua humana en respuesta al lipopolisacárido y está presente en el líquido amniótico de mujeres con parto pretérmino con corioamnioitis <sup>32</sup>.

La infección bacteriana y la respuesta inflamatoria del huésped también inducen producción de prostaglandinas por las membranas fetales, lo que aumenta el riesgo de RPM al causar irritabilidad uterina y degradación de la colágena dentro de las membranas <sup>41-53</sup>.

Ciertas cepas de bacterias vaginales producen fosfolipasa A<sub>2</sub>, lo que libera el ácido araquidónico (precursor de prostaglandinas) de los fosfolípidos de membrana dentro del amnios. La respuesta inmune a la infección bacteriana también incluye la producción de citocinas por monocitos activados que incrementan la producción de prostaglandina E<sub>2</sub> por las células coriónicas. La estimulación de síntesis de citocinas por prostaglandina E<sub>2</sub> por el amnios y corion parece involucrar la inducción de ciclooxigenasa II, enzima que convierte el ácido araquidónico en prostaglandinas. La regulación precisa de la síntesis de prostaglandina E<sub>2</sub> en relación con la infección bacteriana y la respuesta inflamatoria del huésped no está bien comprendida y no se ha establecido una relación directa entre la producción de prostaglandina y la RPM. No obstante, las prostaglandinas (E<sub>2</sub> y F<sub>2α</sub>) son considerados mediadores del trabajo de parto en mamíferos <sup>41-42</sup>. Otros estudios han mostrado que la prostaglandina E<sub>2</sub> disminuye la síntesis de colágena en las membranas fetales e incrementa la expresión de MMP-1 y MMP-3 en fibroblastos humanos. Otro componente de la reacción del huésped a la infección es la producción de glucocorticoides que estimulan la producción de prostaglandinas en el amnios y reducen la síntesis de fibronectina y

colágena tipo III, tal y como se ha demostrado en cultivos primarios de células epiteliales amnióticas. Estos hallazgos sugieren que los glucocorticoides producidos en respuesta al estrés de infección microbiana facilitan la RPM. A pesar de estos hallazgos, no existe demostración concluyente de que la infección preceda a la RPM. No obstante, la infección microbiana y la respuesta inflamatoria del huésped puede incrementar la actividad de las metaloproteasas de la matriz en las membranas fetales y estar involucrada en la patogénesis de algunas RPM <sup>43</sup>.

La actividad coital ha sido relacionada con la RPM, se han estudiado los efectos del eyáculado en la fuerza tensil de las membranas, encontrando que posterior a la incubación de 1 hora, ésta se reduce significativamente <sup>19</sup>.

Las alteraciones del tejido conectivo son asociadas con debilidad de las membranas fetales e incremento en la incidencia de la RPM. El síndrome de Ehlers-Danlos es causado por varios defectos genéticos que afectan la estructura de la colágena tipo I y en los pocos casos en que ha sido posible seguir el embarazo, el parto pretérmino con RPM, complica el 72% de las pacientes <sup>44</sup>.

Las deficiencias nutricionales que predisponen a estructura de colágena anormal han sido también asociadas con riesgo incrementado de RPM. La lisil-oxidasa es una enzima dependiente de cobre y las mujeres con RPM tienen bajas concentraciones de este metal en suero y en cordón umbilical.

En otros estudios, aquellas mujeres con concentraciones bajas de ácido ascórbico, que es requerido para la formación de la estructura triple elíptica de la colágena, tienen mayor índice de RPM <sup>45-46</sup>.

El tabaquismo incrementa en forma independiente el riesgo de RPM y se ha propuesto que uno de sus mecanismos de daño se relaciona con el gasto extra de vitamina C que implica el metabolismo de los compuestos del humo del tabaco y de este modo, se entenderían las concentraciones séricas disminuidas del ácido ascórbico.

Por otro lado, el cadmio del tabaco incrementa la síntesis de la metalotioneína en el trofoblasto, lo que puede ocasionar secuestro de cobre dadas las propiedades quelantes de la proteína <sup>47-19</sup>.

La progesterona y el estradiol suprimen la remodelación de la matriz extracelular en tejidos reproductivos.

Ambas hormonas disminuyen las concentraciones del MMP-1 y MMP-3 e

incrementan las concentraciones de inhibidores tisulares de metaloproteinasas en los fibroblastos cervicales de los conejos; estudios realizados en fibroblastos cervicales de cerdos refieren que altas concentraciones de progesterona disminuyen la producción de colagenasa. La relaxina, una hormona que regula la remodelación del tejido conectivo es producida en la decidua y placenta y revierte los efectos inhibitorios del estradiol y la progesterona al incrementar la actividad del MMP-3 y el MMP-9 en las membranas fetales. La expresión del gen de relaxina está incrementado en las membranas fetales humanas antes del parto a término. Aunque es importante considerar el rol que estas hormonas juegan en los procesos reproductivos, su participación en la RPM no está bien definida <sup>48</sup>.

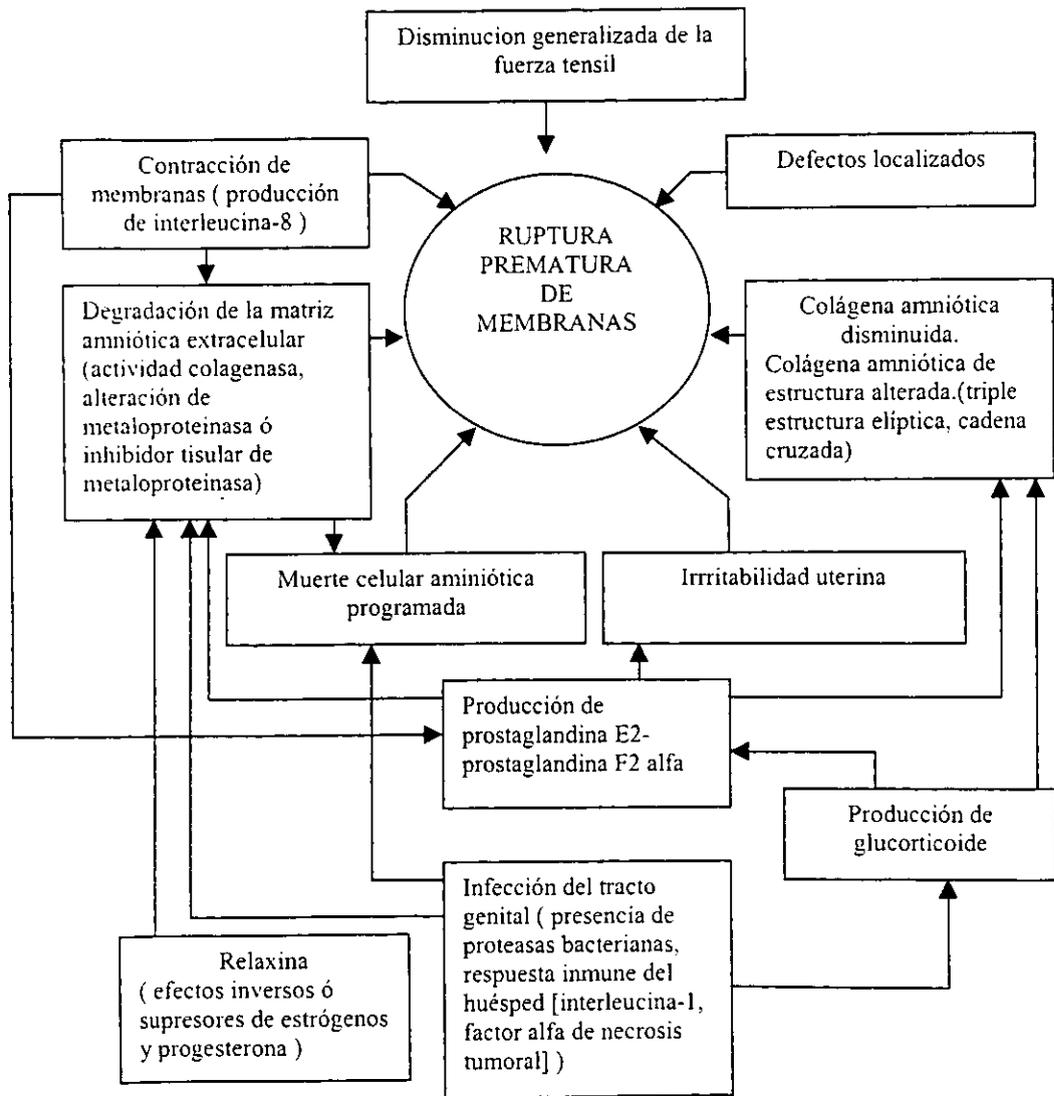
La muerte celular programada o apoptosis ha sido implicada en la remodelación de varios tejidos reproductivos incluyendo el útero y cérvix. La apoptosis es caracterizada por la fragmentación nuclear de DNA y el catabolismo de las subunidades 28S del RNA ribosomal requerido para la síntesis de proteínas. El amnios y el corion obtenido después de la RPM contienen muchas células apoptóticas en áreas adyacentes al sitio de ruptura y pocas células apoptóticas en otras áreas de la membrana.

En casos de corioamnionitis se observan células epiteliales amnióticas apoptóticas en conjunto con granulocitos sugiriendo que la respuesta inmune del huésped puede acelerar la muerte celular en las membranas fetales. Aunque los cambios apoptóticos han sido identificados en las membranas fetales inmediatamente antes del parto los mecanismos reguladores de la apoptosis y los efectos subsecuentes en la fuerza tensil de las membranas fetales todavía no ha sido explicado <sup>10-19</sup>.

La sobredistensión uterina debida a polihidramnios y gestación múltiple induce estiramiento de las membranas e incrementa el riesgo de RPM. La distensión de las membranas, induce la producción de varios mediadores por el propio amnios, incluyendo prostaglandina E<sub>2</sub> e interleucina-8. La distensión incrementa la actividad del MMP-1 dentro de las membranas, La prostaglandina E<sub>2</sub> incrementa la irritabilidad uterina, disminuye la síntesis de colágena de la membrana fetal e incrementa la producción de MMP-1 y MMP-3 por los fibroblastos. La interleucina-8 que es producida por las células corio-amnióticas es quimiotáctica para los neutrófilos y estimula la actividad de colagenasa. La producción de la interleucina-8 que está presente en bajas concentraciones en el líquido amniótico durante el segundo trimestre del embarazo, aumentando al final de la gestación es inhibida por la progesterona.

Por lo tanto la producción amniótica de interleucina-8 y prostaglandina E2 representan cambios bioquímicos en las membranas fetales que pueden ser iniciados por fuerzas físicas (contracción de la membrana) reconciliando la hipótesis de ruptura de membrana inducida física y bioquímicamente <sup>49-31</sup>. Los mecanismos antes mencionados se resumen en el siguiente esquema:

### MECANISMOS PROPUESTOS PARA LA RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS



## **MATERIAL Y METODOS**

### **Grupos de Estudio.**

Se estudiaron mujeres que resolvieron su embarazo en el Instituto Nacional de Perinatología y que se incluyeron en alguno de los grupos a continuación descritos:

**Grupo 1 Ruptura prematura de membranas.** Pacientes con embarazos entre 24 y 40 semanas de gestación, calculadas por fecha de última menstruación (FUM) o por ultrasonido (US) realizado durante el primer trimestre de la gestación, corroborada por Capurro del recién nacido. La RPM fue definida de acuerdo a las Normas del INPer y que se denomina a la salida de líquido amniótico a través de una solución de continuidad de las membranas ovulares en embarazos mayores de 20 semanas y/o por lo menos 2 horas antes de la iniciación del trabajo de parto.

El diagnóstico puede establecerse de acuerdo a las siguientes evaluaciones:

**Clínica:** Mediante la evidencia franca de salida de líquido amniótico a través del conducto cervical corroborado por examen de especuloscopia en forma espontánea o con la maniobra de Tarnier o Valsalva, sin

embargo, en algunas otras ocasiones puede presentarse todo un reto y para ello se requiere de una serie de métodos auxiliares tanto de laboratorio como de gabinete.

### **Auxiliares de laboratorio y gabinete.**

**Cristalografía:** Consiste en tomar una muestra de exudado de fondo de saco vaginal y se dispersa sobre un portaobjetos, dejando secar al aire. Si la muestra está contaminada con sangre, ó lubricante, ó antiséptico o existe infección vaginal, el resultado puede ser falso negativo. Si la muestra se toma del canal vaginal puede ser falsa positiva. Se considera como prueba positiva cuando se observa la formación de helechos.

**laneta:** Se toma la muestra igual que para la realización de la cristalografía y se flamea el portaobjeto por el lado contrario a donde se colocó la muestra. Se considera prueba positiva cuando la muestra se torna de color blanco.

**Amnioinfusión:** Se puede realizar amnioinfusión con una solución de azul de metileno y colocar una gasa vaginal para corroborar que exista ruptura de membranas y no se trate de una alteración del líquido amniótico.

**Ultrasonografía:** El dato que permite sospechar la ruptura es la presencia de oligohidramnios. El ultrasonido además de ayuda diagnóstica, también nos es de ayuda pronóstica, ya que permite observar algunas malformaciones fetales así como el estado fetal.

**Grupo 2 Término.-** Pacientes con embarazos mayores a 37 semanas de gestación, calculadas por FUM o por US realizado durante el primer trimestre de la gestación, resuelto por vía vaginal.

**Grupo 3 Testigo.-** Pacientes con embarazos mayores a 37 semanas de gestación, calculadas por FUM o por US realizado durante el primer trimestre de la gestación, sin trabajo de parto y resuelto por cesárea indicada por cualquier causa materna, obstétrica y fetal excepto las indicadas en los criterios de exclusión.

Todas las pacientes incluidas en el estudio firmaron una carta de consentimiento informado, después de conocer los objetivos, procedimientos y riesgos del estudio. El estudio se clasificó como de riesgo mínimo.

## **CRITERIOS DE INCLUSION**

Además de lo mencionado en la descripción de cada grupo estudiado, se incluyeron los siguientes criterios.

- 1.- Mujeres embarazadas sin complicaciones médicas como: diabetes mellitus, asma, artritis reumatoide, lupus eritematoso, hipertensión arterial sistémica crónica y nefropatías.
- 2.- Mujeres embarazadas sin evidencia clínica de infección, mediante realización de historia clínica general y cultivo negativo para patógenos cervicovaginales citados en el punto 3 de los criterios de exclusión.
- 3.- Sin complicaciones obstétricas como: malformaciones uterinas, placenta previa, acretismo placentario, preclampsia, incompetencia ístmico cervical, síndrome antifosfolípido primario, óbito, polihidramnios y oligohidramnios severos.
- 4.- Mujeres embarazadas sin alteraciones fetales, evaluadas clínica y ultrasonográficamente.

## **CRITERIOS DE EXCLUSION**

- 1.- Pacientes que no desearon participar en el estudio.
- 2.- Pacientes con diagnóstico de alteraciones médicas, obstétricas y fetales mencionadas en los criterios de inclusión.

3.- Pacientes con datos de infección en la historia clínica, o con cultivo positivo en orina .y/o exudado cervicovaginal para: *Estreptococo* del grupo B, *E. Coli*, *Gardnerella vaginalis*, *Neiseria Gonorrhoe* y *Clamydia trachomatis*.

### **Obtención y Manejo de Muestras Sanguíneas.**

**Sangre Periférica.-** Se obtuvieron 10 ml de sangre venosa anticoagulada con 2 mg de EDTA/mL de sangre, por punción de antebrazo al momento de la expulsión del producto en el área de tococirugía, en los casos de parto a término y RPM o durante la cesárea realizada al grupo testigo.

**Sangre Fetal.-** Una vez expulsada la placenta a partir de punción venosa del cordón umbilical, se obtuvieron 10 mL de sangre anticoagulada usando 2 mg de EDTA/ml de sangre, en el área de tococirugía

**Sangre Retroplacentaria.-** A partir de la parte materna en la placenta recién expulsada, se colectaron alrededor de 10 mL de sangre empleando una pipeta Pasteur, los que se depositaron en un tubo con EDTA a una concentración de 2 mg/mL de sangre.

En todos los casos, las muestras sanguíneas fueron transportadas de inmediato al laboratorio donde fue separado el paquete celular del

plasma, mediante centrifugación a 3500 rpm durante 15 minutos.

El plasma recuperado fue puesto en alícuotas y almacenado a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de llevar a cabo los ensayos inmunoenzimáticos.

### **Cuantificación de TNF- $\alpha$ e IL-1 $\beta$ .**

La determinación de la concentración de las citocinas TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , se llevó a cabo mediante ensayos inmunoenzimáticos cuantitativos tipo "sandwich" (ELISA) utilizando reactivos específicos (Genzyme Co. U.S.A.). En forma general se describe la metodología empleada. Se colocaron 100  $\mu\text{l}$  de una solución de anticuerpos monoclonales de captura anti TNF- $\alpha$  ó anti IL-1 $\beta$  en cada caso, en placas de ELISA de alta unión proteica (Marsisolb, Nunc Co. U.S.A.), a una concentración de 2  $\mu\text{g}$  de proteína/ml y de 4  $\mu\text{g}$  de proteína/ml respectivamente. Una vez unido el anticuerpo de captura, se adicionaron 100  $\mu\text{l}$  de suero proveniente de la sangre vascular materna, fetal y retroplacentaria de los grupos de estudio y grupo testigo, dejándose en incubación a temperatura ambiente por 2 horas. Al término de la incubación la placa fue lavada para eliminar todo material no unido al anticuerpo monoclonal, con una solución amortiguadora denominada de lavado la cual contiene Trishidroximetilaminometano 5mM, Tween-20 al 0.01 % y cloruro de

sodio 15 mM, pH 7.4. Se adicionaron 100  $\mu$ l del segundo anticuerpo (anticuerpo de detección) conjugado con biotina en cada pozo de las placas, a una concentración de 2  $\mu$ g de proteína/ml de solución para el caso de TNF- $\alpha$  y de 4  $\mu$ g para IL-1 $\beta$ , los cuales se dejaron en incubación durante 1 hora a temperatura ambiente. Al término de la incubación, la placa de ELISA fue lavada exhaustivamente con solución de lavado, adicionándose el conjugado de estreptavidina/fosfatasa alcalina diluida 1:1000, la que se dejó incubar por 30 minutos a temperatura ambiente. El desarrollo de color se llevó a cabo mediante la utilización del cromógeno para-nitrofenilfosfato, determinándose la absorbancia de las muestras y curva estándar en un lector de ELISA marca Dynatech a 450 nm de longitud de onda. La concentración de las citocinas en las muestras problema, se llevó a cabo mediante interpolación de la absorbancia obtenida, en la curva de calibración de absorbancia *versus* concentración de la citocina, realizada en cada ensayo para ambas citocinas. En todos los casos se analizó el coeficiente de correlación de la curva de calibración obtenida, así como el coeficiente de variación interensayo observado en los estándares bajo, medio y alto empleados en cada experimento de ambas citocinas.

## **Análisis estadístico**

Se utilizará para realizar la descripción de las características de los tres grupos.

Se reportaran datos como media, medianas, rangos para todas las variables cuantificadas. Los valores de cambios de las distintas variables en las pacientes, entre los tres compartimentos y tres grupos serán analizadas con pruebas apropiadas como análisis de varianza (ANOVA) paramétrico y no paramétrico según el resultado.

## RESULTADOS

Se determinó la concentración de las citocinas TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  mediante inmunoensayos enzimáticos, en muestras de sangre periférica, sangre fetal (cordón umbilical) y sangre retroplacentaria, proveniente de mujeres que presentaron parto normal a término, ruptura prematura de membranas y embarazos a término sin trabajo de parto (cesáreas electivas) sin complicación alguna. En todos los casos la determinación de las citocinas presentes en las muestras, fue obtenida en ensayos que mostraron curvas de calibración con coeficiente de correlación mayor del 0.95, con variación interensayo menor al 10 % observada en los estándares bajo, medio y alto incluidos en cada experimento.

Para el caso de mujeres con embarazo normal a término con y sin trabajo de parto, se incluyeron 12 muestras para cada compartimento analizado, mientras que para los embarazos que presentaron ruptura prematura de membranas se incluyeron 22 muestras en los tres compartimentos. Del estudio se descartaron de manera prospectiva aquellas muestras en las que se identificó por bacteriología, la presencia de infección.

El promedio y la desviación estándar de la concentración TNF- $\alpha$  identificada en los compartimentos de los grupos analizados, se muestran en la tabla 1 y se desglosan paciente a paciente en la tabla 2 observándose valores promedio y desviación estándar muy pequeña en el compartimento materno de los tres grupos. Por otro lado, las concentraciones obtenidas en los compartimentos retroplacentario y fetal, muestran cierta tendencia a encontrarse en mayor concentración en los grupos de mujeres que presentan trabajo de parto (a término y RPM), al comparar con el valor obtenido en los mismos compartimentos en el grupo a término sin trabajo de parto. (Tabla 1). Los valores en todos los casos tuvieron dispersión amplia y distribución no normal, razón por la que fue necesario analizar las diferencias entre grupos mediante una prueba de análisis de varianza con corrección de Bonferroni. Los resultados de este análisis para las concentraciones de TNF- $\alpha$  que resultaron significativamente diferentes se muestran en la tabla 3.

Para el caso de IL-1 $\beta$  también se encontraron valores muy dispersos para todos los grupos, por lo que el análisis de normalidad no pasó en ningún grupo. Sin embargo, al igual que con TNF- $\alpha$  es posible observar tendencias de mayor concentración de IL-1 $\beta$ , en los grupos con trabajo de parto a término y RPM, y resalta el compartimento retroplacentario, ya que los valores promedio de la concentración de esta citocina en la parte

materna de los tres grupos(tabla 4), así como en el ambiente retroplacentario de las mujeres con embarazos a término sin trabajo de parto, son muy parecidos pero con dispersiones menores y se muestran los valores para cada caso(tabla 5). El análisis entre grupos se realizó de la misma manera que en el caso anterior y se muestra una tabla con los valores que resultaron significativamente diferentes (tabla 6).

Tabla 1.

Concentración promedio y desviación estándar de TNF- $\alpha$ , en los tres compartimentos analizados de los grupos de estudio.

GRUPO	COMPARTIMENTO MATERNO	COMPARTIMENTO FETAL	COMPARTIMENTO RETROPLACENTARIO
TERMINO CON TRABAJO DE PARTO (n = 22)	994 +/- 55 pg/ml	854 +/- 134 pg/ml	1002 +/- 245 pg/ml
RPM (n = 12)	956 +/- 63 pg/ml	854 +/- 234 pg/ml	834 +/- 236 pg/ml
TERMINO SIN TRABAJO DE PARTO (n = 12)	678 +/- 65 pg/ml	913 +/- 87 pg/ml	789 +/- 77 pg/ml

TABLA 2. Concentraciones del factor de necrosis tumoral desglosado por paciente

T. parto sangre materna	T. parto sangre fetal	T. parto . sangre retroplacentaria	RPM sangre materna	RPM sangre fetal	RPM sangre retroplacentaria	Cesárea sangre materna	Cesárea sangre fetal	Cesárea sangre retroplacentaria
990	767	910	975	1070	740	680	910	800
945	1000	1500	980	800	580	645	800	750
995	987	1400	820	820	703	703	1010	828
1100	978	1200	956	784	1250	854	991	6360
994	778	745	923	565	680	700	828	900
996	745	889	910	880	666	650	845	770
972	900	1310	980	720	759	695	890	872
985	776	1172	1070	725	1238	691	878	880
934	752	688	980	575	652	640	990	748
1010	717	975	890	800	763	639	1070	825
1050	900	645	988	1158	755	649	814	752
975	788	1260	1000	1360	775	590	930	707
901	823	722						
962	810	1065						
1000	1150	1110						
987	834	806						
999	834	734						
1200	800	1200						
975	710	1100						
983	728	950						
999	812	875						

TABLA 3

Análisis estadístico de valores de TNF- $\alpha$

Datos que resultaron diferentes (ANOVA,  $p < 0.05$ )

TRABAJO DE PARTO SANGRE MATERNA	CESÁREA SANGRE MATERNA
TRABAJO DE PARTO SANGRE RETROPLACENTARIA	CESÁREA SANGRE RETROPLACENTARIA
TRABAJO DE PARTO SANGRE RETROPLACENTARIA	CESÁREA SANGRE MATERNA
RPM SANGRE MATERNA	CESÁREA SANGRE MATERNA
CESÁREA SANGRE MATERNA	CESÁREA SANGRE FETAL

Tabla 4.

Concentración promedio y desviación estándar de IL-1 $\beta$ , en los tres compartimentos analizados de los grupos de estudio.

GRUPO	COMPARTIMENTO MATERNO	COMPARTIMENTO FETAL	COMPARTIMENTO RETROPLACENTARIO
TERMINO CON TRABAJO DE PARTO (n = 22)	56 +/- 6 pg/ml	68 +/- 10 pg/ml	276 +/- 128 pg/ml
RPM (n = 12)	67 +/- 6 pg/ml	76 +/- 11 pg/ml	500 +/- 340 pg/ml
TERMINO SIN TRABAJO DE PARTO (n = 12)	50 +/- 3 pg/ml	67 +/- 2 pg/ml	55 +/- 9 pg/ml

TABLA 5. Concentraciones de interleucina-1 beta desglosado por paciente

T. parto sangre materna	T. parto sangre fetal	T. parto sangre retroplacentaria	RPM sangre materna	RPM sangre fetal	RPM sangre retroplacentaria	Cesárea sangre materna	Cesárea sangre fetal	Cesárea sangre retroplacentaria
58	70	200	70	85	450	45	68	54
60	55	250	65	85	800	52	70	65
60	80	250	65	72	100	49	68	68
45	81	500	65	69	937	45	65	67
55	65	350	62	50	555	48	65	55
53	72	375	57	80	875	48	70	62
52	78	115	71	85	900	52	64	45
50	75	150	72	72	601	52	70	44
55	79	350	70	73	525	56	64	50
60	80	200	78	81	60	53	66	54
61	70	250	68	68	78	48	68	45
66	72	115	60	92	120	50	64	52
44	65	300						
65	60	545						
60	54	250						
58	50	70						
60	60	60						
50	60	33						
58	50	342						
65	80	350						
58	75	320						
48	65	400						

Tabla 6.

**Análisis estadístico de valores de  $1-\beta$**

**Datos que resultaron diferentes (ANOVA,  $p < 0.05$ )**

TRABAJO DE PARTO SANGRE MATERNA	RPM SANGRE RETROPLACENTARIA
TRABAJO DE PARTO SANGRE MATERNA	TRABAJO DE PARTO SANGRE RETROPLACENTARIA
TRABAJO DE PARTO SANGRE FETAL	RPM SANGRE RETROPLACENTARIA
TRABAJO DE PARTO SANGRE FETAL	TRABAJO DE PARTO SANGRE RETROPLACENTARIA
TRABAJO DE PARTO SANGRE FETAL	CESAREA SANGRE RETROPLACENTARIA
TRABAJO DE PARTO SANGRE RETROPLACENTARIA	CESAREA SANGRE FETAL
TRABAJO DE PARTO SANGRE RETROPLACENTARIA	RPM SANGRE RETROPLACENTARIA
TRABAJO DE PARTO SANGRE RETROPLACENTARIA	RPM SANGRE FETAL
TRABAJO DE PARTO SANGRE RETROPLACENTARIA	RPM SANGRE MATERNA
RPM SANGRE MATERNA	RPM SANGRE RETROPLACENTARIA
RPM SANGRE FETAL	CESAREA SANGRE FETAL
RPM SANGRE RETROPLACENTARIA	CESAREA SANGRE RETROPLACENTARIA
RPM SANGRE RETROPLACENTARIA	CESAREA SANGRE FETAL
RPM SANGRE RETROPLACENTARIA	CESAREA
RPM SANGRE RETROPLACENTARIA	SANGRE MATERNA

## DISCUSION

Tradicionalmente el ginecoobstetra atribuye la RPM a la contracción uterina con el inicio del trabajo del parto; sin embargo, esta explicación no es convincente. Estos conceptos han evolucionado rápidamente, particularmente con la acumulación de evidencias que indican la participación de procesos infecciosos. La mayoría de los datos apoyan la hipótesis de que la activación de las metaloproteasas por moléculas mediadoras tales como citocinas, prostaglandinas y relaxinas, generan la degradación de colágena, pérdida de la fuerza tensil y por consiguiente la RPM. Todo esto ha generado un cambio importante en el manejo de esta patología de un manejo intervencionista a un manejo expectante incrementando de ésta manera la viabilidad de los productos pretermino. Otros factores a considerar en la fisiopatología de la RPM son el estilo de vida y de conducta, tales como tabaquismo y nutrición, los cuales toman importancia por que pueden persistir en embarazos subsecuentes.

Diferentes estudios han demostrado que la amplia gama de citocinas que inducen la inflamación tales como interleucina-alfa, interleucina-1 beta, interleucina-6, interleucina-8 y factor de necrosis tumoral alfa, que se encuentran presentes solo en bajas cantidades en el liquido amniotico normal pero aumentadas en casos de procesos infecciosos agregados, tienen efectos directos sobre las poblaciones celulares que componen la

interfase entre el producto y la madre. En especial se ha demostrado que el factor de necrosis tumoral alfa y la interleucina-1 beta son capaces de inducir cambios funcionales en las membranas corioamnióticas caracterizados por la degradación de los componentes de la matriz extracelular ocasionando pérdida de la integridad mecánica del tejido que se ha propuesto como el factor desencadenante de la RPM. El mantenimiento de la fuerza tensil de las membranas fetales parece involucrar un equilibrio entre la síntesis y la degradación de los componentes de la matriz extracelular. Estos cambios incluyen disminución en el contenido de colágeno, alteración de la estructura y activación colagenolítica aumentada en casos de RPM. Existen evidencias bioquímicas y morfológicas que indican que la alteración de los elementos responsables de la fuerza tensil de las membranas es necesaria para que ocurra la RPM.

En este trabajo se determinaron las concentraciones de las citocinas factor de necrosis tumoral alfa e interleucina-1beta mediante ensayos inmunoenzimáticos cuantitativos (ELISA) con la finalidad de analizar una respuesta de síntesis de estas citocinas en los compartimientos fetal, placentario y materno, proponiendo como una posibilidad la inducción selectiva de estas citocinas en ausencia de infección.

Los resultados obtenidos demuestran que las concentraciones obtenidas del factor de necrosis tumoral alfa en los compartimientos materno, fetal y retroplacentario no presentan valores estadísticamente

significativos, sin embargo, existe cierta tendencia a encontrarlo en mayor concentración en los grupos de mujeres que presentaban trabajo de parto a término y RPM en comparación con el grupo sin trabajo de parto. En relación a la determinación de interleucina-1beta se encontró una diferencia estadísticamente significativa al comparar los diferentes compartimentos encontrando mayor concentración en el compartimento retroplacentario de mujeres con embarazo de término con trabajo de parto y con RPM. De esta manera es posible reafirmar la hipótesis que tanto el factor de necrosis tumoral alfa y la interleucina-1beta participan en los cambios locales que culminan con la degradación de las membranas fetales y que se manifiesta clínicamente como una ruptura espontánea normal ó RPM.

Es importante señalar que debido al tamaño la muestra es necesario realizar estudios que incluyan una población más amplia que permitan corroborar estos resultados preliminares. El presente estudio marca la pauta para el desarrollo a futuro de marcadores serológicos predictivos para RPM en grupos de riesgo.

Estudios recientes proponen que la respuesta de los tejidos de cada individuo, dependiendo de la raza podrían explicar la susceptibilidad aumentada para el desarrollo de la RPM aunada a factores ambientales tales como el nivel socioeconómico, control prenatal inadecuado ó infección del tracto genital.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Caldeyro-Barcia A. Natural history of human labor. *Am J Obstet Gynecol* 1982; 58:134-137
2. Arias F, Gonzalez-Ruiz AR, Jacobson RL. Recent advances in the pathophysiology and management of preterm premature rupture of the fetal membranes. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1999; 11:141-147.
3. Steven RA. Epidemiology of premature rupture of the fetal membranes. *Clin Obstet and Gynecol* 1991; 34:685-693.
4. MacGregor JA, French JI, Seo K. Premature rupture de membranes and bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169:463-466.
5. Harger JH, Hsing AW, Toupmala RE, Gibbs RS. Risk factors of premature rupture of the membranes. A multicenter case-control study. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163:130-137.

6. Savitz DA, Blackmore CA, Thorp JM. Epidemiologic characteristics of preterm delivery: Ethologic heterogeneity. Am J Obstet Gynecol 1991; 164:467-471.
7. Arias F. Guía practica para el embarazo y el parto de alto riesgo. 2ª ed. Harcout Brace 1997: 101-111.
8. Instituto Nacional de Perinatología. Normas y procedimientos de Obstetricia y Ginecologia.1998:151-154.
9. Carrera JM. Protocolos obstétricos y Medicina perinatal. Instituto Dexeus 3ª. ed. Masson 1992:187-189
- 10.Alexander JM, Cox SM. Clinical course of premature rupture of the membranes. Semin Perinatol 1996; 20:369-374.
- 11.Cox SM, Williams ML, Leveno KJ. The natural history of preterm ruptured membranes: What to expect of expectant management. Obstet Gynecol 1988; 71:558-562

12. Magaña L, Pfeffer F, Casanueva E. Impacto de la ruptura prematura de membranas en el recién nacido. *Perinatol Reprod Hum* 1990; 4:4-7.
13. Seo K, Mc Gregor JA, French JI. Preterm birth is associated with increased risk of maternal and neonatal infection. *Obstet Gynecol* 1992; 79:75-80
14. Lanier LR, Scarbrough RW, Fillingim DW, Baker RE. Incidence of maternal and fetal complications associated with rupture of the membranes before onset of labor. *Am J Obstet Gynecol* 1964; 95:398-402.
15. Naeye RL, Peters EC. Causes and consequences of premature rupture of fetal membranes. *Lancet* 1980; 92-94.
16. Hytham M, Imseis I, Jay DI. Glucocorticoid use in patients with preterm rupture of the fetal membranes. *Semin Perinatol* 1996; 20:439-450.

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

17. Fortunato SJ, Welt IS, Eggleston MK, Bryant EC. Active expectant management in very early gestations complicated by premature rupture of the fetal membranes. *J Reprod Med* 1994; 39:13-16.
18. Romero RG, Hillier SL, Eschenbach DA. A review premature birth and subclinical infection. *Am J Obstet Gynecol* 1992;166:1515-1528.
19. Parry S, Strausse III JF. Rupture premature of the fetal membranes. Mechanisms of disease. *N Engl J Med* 1998; 338: 663-670.
20. Romero R, Ghidini A, Mazor M, Behnke E. Microbial invasion of the amniotic cavity in premature rupture of membranes. *Clin Obstet Gynecol* 1991; 34:769-778
21. Knox IC, Vicksburg M, Hoerner JK. The role of the infection in premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1950; 59:190-194.

22. McGregor JA, French JI, Seo K. Antimicrobial therapy in preterm premature rupture of membranes: Results of a prospective double-blind, placebo controlled trial of erythromycin. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165:632-640.
23. Christmas JT, Cox SM, Andrews W, Dax J. Expectant management of preterm ruptured membranes: Effects of antimicrobial therapy. *Obstet Gynecol* 1992; 80:759-762.
24. Egarter C, Leitch H, Karas H, Wieser F. Antibiotic treatment in preterm premature rupture of membranes and neonatal morbidity: A metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174:589-597.
25. McGregor JA, French JI, Seo K. Antimicrobial therapy in preterm premature rupture of membranes: Results of a prospective, double blind, placebo-controlled trial of erythromycin. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 632-640.
26. Bendon RW. Histopathology of fetal membrane rupture: A review of the literature. *Semin Perinatol* 1996; 20:381-387.

27. French JI, MacGregor AJ. The pathobiology of premature rupture of membranes. *Semin Perinatol* 1996; 20:344-368.
28. Vadillo F, González G, Karchmer S. Collagen metabolism in premature rupture of amniotic membranes. *Obstet Gynecol* 1990;75:84-88.
29. Campbell B, Newman RB, Stramm SL. Uterine activity after preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165:422-425.
30. Draper D, MacGregor J, Hall J, Jones W. Elevated protease activities in human amnion and chorion correlate with preterm premature rupture of membrane. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173:1506-1512.
31. Parry JE, Priyo S. A study of elasticity and tension of fetal membranes and of the relation of the area of the gestational sac to the area of the uterine cavity. *Br J Obstet Gynecol* 1976; 83:205-209.

32. Kanayama N, Terao T, Kawashima I. Collagen types in normal prematurely rupture amniotic membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 153:899-903.
33. Vadillo OF, Hernández A, Strausse K. 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; 174:1371-1376.
34. Hsu CD, Meaddough E, Aversa K, Hong SF, Lu LC. Elevated amniotic fluid levels of leukemia inhibitory factor interleukin-6 and interleukin-8 in intra-amniotic infection. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179:1267-1270.
35. Menon R, Swan FK, Lyden WT, Fortunato JS. Expression of inflammatory cytokines (interleukin-1B and interleukin-6) in amniochorionic membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172:493-500.

36. Romero R, Avila C, Brekus CA, Morotti R. The role of systemic and uterine infection in preterm parturition. *Ann New York Acad Sci* 1991; 622:355-375.
37. Schoonmaker NJ, Lawellin DW, MacGregor AJ. Bacteria and inflammatory cells reduce chorioamnionitis membrane integrity and tensile strength. *Obstet Gynecol* 1989;74:590-595.
38. Romero R, Quintero R, Oyarzun E, Wu YK. Intraamniotic infection and the onset of labor in preterm premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 159:661-666.
39. McDonald HM, O Loughlin JA, Vigneswaran R. Vaginal infection and preterm labor. *Br J Obstet Gynecol* 1991; 98:427-435.
40. McGregor JA, French JI, Lawellin D, Franco-Buff A. Bacterial protease-induced reduction of chorioamnionitis membrane strength and elasticity. *Obstet Gynecol* 1987; 69:167-174.

41. Toth M, Witkin SS, Ledger W, Thaler H. The role of infection in the etiology of preterm birth. *Obstet Gynecol* 1988; 71:723-726.
42. Romero R, Quintero R, Oyarzun E, Wu YK. Intraamniotic infection and the onset of labor in preterm premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 159:661-666.
43. Garite TJ, Freedman RK. Chorioamnionitis in the preterm gestation. *Obstet Gynecol* 1982;59:539-542.
44. Barabas AP. Ehlers-Danlos syndrome: associated with prematurity and rupture premature of fetal membranes; possible increase in incidence. *BMJ* 1996; 5515:682-684.
45. Schreiber J, Benedetti T. Conservative management of preterm premature rupture of the fetal membranes in a low socioeconomic population. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 136:92-96.

46. Gosselink CA, Ek, Woolson RF, Moawad A. Dietary habits pre-pregnancy weight and weight gain during pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1992; 71:425-438.
47. Pernol ML. Diagnóstico y tratamiento Gineco-obstétrico 8ª ed. Manual moderno 1997:412-415.
48. Evaldson G, Lagrelius A, Winiarski J. Premature rupture of the membranes. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1980; 59: 385-393.
- 49 Friedman ML, McElin TW. Diagnosis of rupture fetal membranes. *Am Obstet Gynecol* 1996; 104:544-550.
- 50 Naeye RL. Factors that predispose to premature rupture of the fetal membranes. *Obstet Gynecol* 1982; 60:93-98.
- 51 Fayez JA, Hassan AA, Jonas HS. Management of premature of the membranes. *Obstet Gynecol* 1978; 52:17-21.

- 52 Perkins RP, Shou S, Butler C, Skipper BJ. Histologic chorioamnionitis in pregnancies of various gestational ages: Implications in preterm rupture of membranes. *Obstet Gynecol* 1987; 70:856-560.
- 53 Romero R, Emamian M, Wan N, Quintero R. Prostaglandin concentration in amniotic fluid of woman with intraamniotic infection and preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157:1461-1467.
- 54 Minkoff H, Grunebaum AN, Schwarz RH, Feldman J. Risk factors for prematurity and premature rupture of membranes: A prospective study of the vaginal flora in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 150:965-972.