

11217
134



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA

ESTADO DE OXIDO-REDUCCIÓN Y ACTIVIDAD COLAGENOLÍTICA EN CORIOAMNIOS DE MUJERES CON Y SIN RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS

1983

[Handwritten signature]

T E S I S

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA PARA OBTENER EL TÍTULO DE :



ESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

DIRECCION DE ENSEÑANZA

[Handwritten initials]

P R E S E N T A :

DRA. NORA RAMOS VALENZUELA

ASESORES :

**DR. CÉSAR ÁNGEL HERNÁNDEZ GUERRERO
DRA. MAGDALENA ENRÍQUEZ PÉREZ**



INPer

**TESIS CON
VALOR DE ORIGEN**

MÉXICO, D.F.

**DR. J. ROBERTO AHUED AHUED
DIRECTOR GENERAL**

PROFESOR TITULAR

2003.

[Handwritten number 1]



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

A Dios

Por permitir la realización de mis metas.

A Mi Esposo Toño

Por compartir mis sueños, por su apoyo y por existir en mi vida.

A mis hijos:

Toño: Por todos los juegos no compartidos.

Avryl: Por las horas de sueño robadas.

A mis Padres.

Por darme la vida, por su cariño y confianza.

A Mary, Felix y Aída.

Por estar conmigo como siempre.

A El Inper, las pacientes y mis maestros
por abrigar mis anhelos y forjar mi enseñanza.

A todos mis compañeros de generación, por su amistad y experiencias compartidas en especial, mis compañeros de primer año (Lety, Osvi, Jorge Z, JorgeD.)

A Mis Asesores

Sin cuya ayuda no hubiera sido posible la realización de mi tesis.

Gracias.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2

ÍNDICE

	Pág.
Índice.....	i
Índice de tablas	ii
I. Introducción.....	1
I.1 Incidencia	1
I.2 Fisiopatología.....	3
I.2 Radicales libres.....	5
I.3 Lipoperoxidación	8
Objetivos.....	11
Justificación.....	12
Hipótesis.....	13
II. Material y Método.	14
II.1 Criterios de inclusión.....	15
II.2 Criterios de exclusión	15
II.3 Variables independientes, dependientes y de control.....	15
III. Resultados.	22
IV. Discusión.....	28
V. Conclusiones.....	36
VI. Bibliografía.....	37

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Índice de Tablas

Pág.

Tabla 1. Datos epidemiológicos.....	23
Tabla 2. Edad.....	24
Tabla 3. Gestas.....	24
Tabla 4. Cesáreas.....	25
Tabla 5. Valor de MMP-9	26
Tabla 6. Niveles de MMP-9	26
Tabla 7. Niveles de Malondialdehído.....	27

TESIS CON
PANEL DE ORIGEN

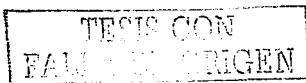
I.- Introducción.

Se llama ruptura prematura de membranas 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 dos horas antes de comenzar el trabajo de parto. Afecta a 250,000 partos en Estados Unidos, siendo 40,000 de estos nacimientos antes de término (1)

I.1.- Incidencia

Se ha reportado que un 11-17% de casos de ruptura prematura de membranas ocurre antes de la semana 37 de gestación, este hecho es importante ya que el 10% de las muertes perinatales de 53,000 embarazos son secundarias a este hecho. Las complicaciones relacionadas con parto pretérmino son impresionantes y explican un 70% de la morbilidad neonatal y 40% de las muertes neonatales, los infantes pretérmino tienen riesgo de muerte incrementada, y la morbimortalidad relacionada con la "inmadurez" de distintos órganos, lo que incluye disfunciones a nivel respiratorio, cardiovascular, gastrointestinal, neurológico e inmunológico (2,3). Problemas específicos incluyen síndromes de dificultad respiratoria, displasia broncopulmonar, ducto-arterioso persistente, enterocolitis necrotizante, apnea y sepsis. Se estima que en partos pretérmino de 23 semanas o menos la tasa de sobrevida es de 20%. Esto incrementa a 50, 70, 80 y 90 % a la semana 24, 25, 26 y 28 respectivamente. (4)

Pfeffer y sus colaboradores reportaron una prevalencia del 9.8 -12% de ruptura prematura de membranas entre todos los nacimientos sucedidos en el



PAGINACIÓN DISCONTINUA

Instituto nacional de perinatología (INPer). Este fenómeno ocupó el quinto lugar entre las causas primarias de muerte fetal y el séptimo entre las causas secundarias. Fue la primera causa materna de muerte neonatal en 17% y secundaria en 21%. (5)

Su frecuencia es mayor en grupos de menor capacidad socioeconómica; por lo tanto se relaciona con factores nutricionales, edad de la mujer, multiparidad, actividad física e infecciones. Algunos autores reportan una incidencia que va del 3 al 18%. Esta variación se atribuye a las diferentes poblaciones. Aproximadamente del 8 al 10% de las pacientes a término presentan ruptura prematura de membranas antes del inicio de trabajo de parto, mientras que; en nacimientos pretérmino se calcula que alcance 25% de todos los casos. La contribución de esta afectación a los nacimientos pretérmino es más elevada para la población de estratos socioeconómicos mas bajos y asociada con alta incidencia de enfermedades de transmisión sexual. (6)

La membrana amniótica es un tejido complejo, el amnios es el tejido adyacente al líquido amniótico. Esta compuesto por una capa simple de células cuboides no ciliadas y una membrana celular basal, el siguiente es un tejido conectivo denso de fibras acelulares bajo el cual hay fibroblastos; por último hay una capa esponjosa compuesta de fibrillas empaquetadas.

Las capas de fibras compactas tienen colágena tipo I, III, IV, V y VI, y la capa profunda solo tiene colágena tipo IV y en el corion hay colágeno tipo IV y V. (7)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1.2.- Fisiopatología.

La ruptura prematura de membranas resulta inicialmente por el daño de la colágena en el corioamnios principalmente en el sitio de ruptura. Siendo la colágena el principal componente de soporte hasta en un 80%.

La degradación de la colágena dentro del corioamnios es controlada por metaloproteinasas (MMPs) de la matriz extracelular, que son un grupo de enzimas con características funcionales muy semejantes, todas ellas actúan en condiciones fisiológicas, dependen del calcio y muestran una gran selectividad por su sustrato; aunque la familia entera no ha sido descrita con precisión, destacan algunas de ellas como la MMP-1 que degrada la colágena tipo I, II y III (la colágena tipo I es la que proporciona mayor soporte a el corion), y se ve significativamente incrementada en la ruptura prematura de membranas en presencia o ausencia de infección. (8).

La MMP-2 y MMP-9 degrada la colágena tipo IV (la cual es el mayor componente de la membrana basal). La MMP-8 también se ve aumentada de manera importante en la ruptura prematura de membranas de gestación pretérmino pero no en la gestación a término, también se incrementa en la invasión de patógenos a la cavidad amniótica.(9). La liberación de la proteinasa en turno es regulada por tejidos inhibidores de metaloproteinasas (TIMPS) los cuales son cuatro tipos no bien conocidos. El mantenimiento del corioamnios en el embarazo normal, requiere de un balance entre la síntesis de

colágena por los fibroblastos, y la actividad colagenolítica como respuesta controlada por enzimas que son expresadas en las membranas fetales. (10)

La ruptura prematura de membranas se ha asociado con infección, sangrado en el segundo trimestre y uso de drogas. Las bacterias juegan un papel muy importante en dicha patología, McGregor ha reportado que las metaloproteinasas producidas por bacterias tales como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacteroides* y *Streptococcus* hemolítico del grupo B, pueden participar de manera significativa en la formación de productos de degradación de la colágena, debilitándola; pudiendo ocasionar fragilidad en la membrana. (11)

En un estudio realizado por Maymon y Cols.; en 291 mujeres, en donde el propósito de la investigación fue determinar las concentraciones de las formas activas de MMP-2 y MMP-9 y su participación en mujeres con trabajo de parto a término y pretérmino y ruptura prematura de membranas, con o sin infección corioamniótica, observaron que las formas activas de MMP-2 y MMP-9 se encontraban presentes en la mayoría del líquido amniótico a partir de la mitad del tercer trimestre del embarazo normal, pero la forma activa de la MMP-9 se encontraba aumentada de manera significativa en pacientes con ruptura prematura de membranas con invasión de microorganismos, en comparación con las pacientes con trabajo de parto pretérmino con membranas intactas. En contraste las formas activas de MMP-2 disminuyeron o permanecieron sin cambios. Estas observaciones soportan el papel de las gelatinasas como mecanismo responsable de dicha patología en presencia de infección. (12)

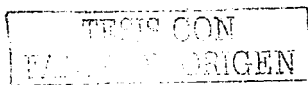
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Antal y Col.; Compararon el grosor de la membrana corioamniótica en 13 mujeres con embarazo a término y ruptura prematura de membranas (CRPM) y 15 mujeres con embarazo pretérmino con ruptura de membranas en labor (SRPM), encontrando que en ambos grupos las membranas eran más delgadas en el sitio cercano a la ruptura, en comparación con el área cercana a la implantación de la placenta.

Las membranas de las pacientes con ruptura prematura (CRPM) fueron más delgadas en el sitio de la ruptura en comparación con las membranas de las pacientes con ruptura espontánea en labor (SRPM). Al comparar la resistencia de las membranas en mujeres pretérmino con las membranas de mujeres con ruptura prematura de membranas (CRPM) y sin ruptura de membranas (SRPM), las primeras tenían una resistencia de 124.2 Kg/m^2 , las pacientes CRPM tenían una resistencia de 49.6 Kg/m^2 y las de SRPM de 49.5 Kg/m^2 . Estos hallazgos sugieren que la ruptura puede deberse a que en las pacientes con ruptura prematura de membranas hay un defecto local que facilita la ruptura. (13)

I.3.- Radicales libres.

Las especies reactivas de oxígeno son moléculas inestables que son generadas continuamente en el cuerpo y que pueden producir daño tisular



pudiendo ser responsable de la ruptura prematura de membranas. Las dos fuentes más comunes de especies reactivas de oxígeno son las dependientes del sistema transportador de electrones en el interior de la membrana de la mitocondria durante la respiración celular y liberación por células inmunológicas al combatir con agentes patógenos o infecciones locales o sistémicas, durante el proceso inflamatorio denominado "estallido respiratorio".

Ciertas especies reactivas de oxígeno pueden existir de forma independiente por un corto periodo de tiempo como un electrón externo, llamados también "radicales libres", que son formas muy reactivas de oxígeno que a pesar de que son un producto normal que fabrica el cuerpo también posee un poder destructivo enorme, pudiendo ocasionar daño importante en la membrana celular y a diferentes organelos celulares, dañar el DNA ocasionando con esto la muerte celular. (14)

Los ejemplos de especies reactivas de oxígeno son el superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo (OH^\cdot) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) quien no es un radical libre al no tener un electrón desapareado en su última órbita, pero es una fuente importante en la generación del radical hidroxilo (OH^\cdot), quienes en conjunto son capaces de ocasionar daño generalizado a estructuras celulares (principalmente a la membrana celular y al complejo intermembranal) debido a la abundancia de electrones disponibles en las cadenas hidrocarbonadas de los ácidos grasos que las componen. Otros radicales libres que no tienen carga son el ácido hipocloroso ($HOCl$) y el óxido nítrico (ON).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Las especies reactivas de oxígeno pueden inducir daños en diferentes tejidos al producir la peroxidación lipídica de las membranas, incrementando el calcio intracelular que activa diferentes vías de transducción de señal que median la síntesis de metaloproteasas, y prostaglandinas, las cuales se asocian con los mecanismos de disminución de la capacidad tensil de las membranas ovulares.

Las condiciones clínicas como la infección la cual es muy frecuente en la ruptura prematura de membranas, es un mecanismo que promueve la liberación local de grandes cantidades de radicales libres, al iniciar los mecanismos maternos de defensa a través de diversas estirpes celulares inmunológicas (macrófagos, monocitos, neutrófilos) en contra de los agentes patógenos agresores, sumado a la capacidad de síntesis de citocinas inflamatorias (factor de necrosis tumoral-alfa, Interleucina-1 beta, Interleucina-6, Interleucina-8) que se ha documentado son capaces de producir las células amnióticas, coriónicas y deciduales, promoviéndose aun más la liberación de radicales libres por parte de células inmunológicas y no inmunológicas al iniciar un diálogo molecular debido a la presencia de las citocinas antes mencionadas.

La aparición de las especies reactivas de oxígeno, actúan de diversas formas, siendo capaces de ocasionar muerte celular, promoviendo la pérdida de la función celular, o actuando directamente sobre los componentes de matriz extracelular (alterando la estructura tridimensional de las fibras de colágena, lo que ocasiona la disminución de su capacidad de soporte). Bajo este esquema, se ha sugerido que hábitos tales como el consumo de

cigarrillos o abuso de drogas, son capaces de liberar diversos radicales libres (superóxido, peróxido de hidrógeno, iones hidroxilo y óxido nítrico), lo que puede explicar su participación como factor de riesgo para presentar ruptura prematura de membranas, así como el bajo consumo de alimentos ricos en compuestos antioxidantes (vitaminas, minerales). Asimismo, se ha descrito que el sangrado vaginal puede aumentar el riesgo de ruptura prematura de membranas, como resultado de la liberación de hierro durante la degradación de eritrocitos, metal de transición que promueve la aparición de radicales orgánicos, sumado a esto, la sangre adyacente al amnios puede ser un medio ideal para el cultivo de bacterias. El daño local ocasionado, es capaz de ocasionar muerte celular e isquemia, lo que conlleva a la pérdida de soporte mecánico y funcional de la membrana lo que promueve su debilitamiento y potencial ruptura. (15)

1.4.- Lipoperoxidación.

La peroxidación lipídica es una reacción en cadena que produce un suministro continuo de radicales libres que inician la peroxidación posterior. La peroxidación de los lípidos expuestos al oxígeno es la causa sólo del deterioro de los alimentos (rancidez) sino que también ocasiona en tejidos in vivo importantes consecuencias fisiológicas y/o patológicas (cáncer, enfermedades inflamatorias, aterosclerosis, envejecimiento, etcétera). Estos efectos deletéreos son iniciados por los radicales libres. Un radical libre es cualquier especie química, molécula o átomo, portadora de uno o más electrones desapareados (la nomenclatura química indica el carácter de radical libre de una molécula con la colaboración de un punto al final de la fórmula química:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

R•). Un electrón desapareado es aquel que ocupa un orbital atómico o molecular por él mismo (sólo él está en ese orbital), en lugar de los dos electrones que habitualmente ocupan un orbital. El electrón no apareado confiere una alta reactividad química a los radicales libres, que buscan con avidez completar su par electrónico. En la materia viva, los radicales libres se originan generalmente con la captura de átomos de hidrógeno (electrón más protón), a expensas de moléculas orgánicas próximas.

Los ácidos grasos poli insaturados de los sistemas vivos son muy vulnerables a la peroxidación. La base de este proceso es que el doble enlace carbono-carbono debilita la unión carbono-hidrógeno del átomo de carbono vecino, haciéndolo susceptible a la abstracción de hidrógeno por radicales libres y crea un nuevo radical orgánico.

Una vez producida la abstracción, las reacciones pueden tener lugar en cualquier secuencia y muchos de los productos de degradación reactivos pueden contribuir a una mayor oxidación. El oxígeno se puede unir a los ácidos de los que se ha abstraído el hidrógeno, formando radicales libres que pueden reaccionar entonces con otra molécula de lípido, lo que conduce a la abstracción de hidrógeno de la segunda molécula. Los productos de esta reacción son un hidroxiperóxido de lípido en la primera molécula y un nuevo radical libre en la segunda molécula atacada. (16,17)

Las moléculas de hidroperóxido de lípido se rompen, formando dialdehídos, siendo el más prominente el Malondialdehído (MDA). Este producto puede

TESIS CON
FALLA EN EL ORIGEN

formar enlaces cruzados entre varios tipos de moléculas, enlaces que conducen a citotoxicidad, mutagenicidad, ruptura de membranas y modificación de enzimas. El MDA también se polimeriza consigo mismo y con otros productos de degradación tisulares formando un pigmento insoluble, lipofuscina, que se acumula en algunos tejidos envejecidos.

Por otra parte se ha comprobado que la hepatotoxicidad producida por el tetracloruro de carbono, por el halotano, por la isoniacida y por la bleomicina tiene, como uno de sus factores importantes, la lipoperoxidación. (18)

Con los datos antes mencionados se puede postular que la colágena del tejido amniótico, es un sitio blanco para ser dañado por especies reactivas de oxígeno, ya sea por acción directa sobre la estructura tridimensional de la proteína fibrilar o mediante la inducción en la síntesis de enzimas colagenolíticas (MMPs) por parte de células del corion y amnios, estimulada por diversos radicales libres, o activando a especies latentes de estas enzimas.

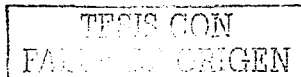
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Objetivo General

El presente trabajo plantea identificar y evaluar el estado de óxido reducción presente en explantes de membranas ovulares, y correlacionar la presencia y actividad de MMP-9, empleando muestras provenientes de mujeres que presentan ruptura prematura de membranas con embarazo a término y pretérmino

Objetivos Específicos.

1. Determinar la presencia de malondialdehído en explantes de membranas corioamnióticas en tres grupos de estudio: 1) Mujeres con RPM y sin trabajo de parto, 2) Mujeres sin RPM y sin trabajo de parto, 3) Mujeres sin RPM con trabajo de parto .
2. Caracterizar la presencia y actividad de MMP-9, en extractos de membranas corioamnióticas, obtenidas de los grupos antes señalados.
3. Correlacionar el estado de óxido reducción en los tres grupos antes mencionados, con la presencia o ausencia de RPM.



Justificación

La ruptura prematura de membranas es un problema de salud pública en México y a nivel mundial, representa una de las causas principales de morbilidad neonatal. A la fecha se desconoce las causas que condicionan la aparición del fenómeno, pero las evidencias señalan una fuerte relación con procesos infecciosos, relacionando la liberación de compuestos inflamatorios con la etiología, sin embargo existe falta de evidencias suficientes que vinculen los procesos. La investigación dirigida sobre los mecanismos relacionados en este ámbito, pretenden arrojar información que nos permita entender el evento de manera que este sea en lo posible identificable, predecible, lo que permita implementar mejores medidas de control y manejo de la patología.

Pregunta de Investigación

¿Las membrana corioamniótica de pacientes con ruptura prematura de membranas, son diferentes en término de un aumento en el estado de oxido/reducción, identificado como un aumento en la lipoperoxidación y actividad enzimática de metaloproteinasas (MMP-9) con respecto a pacientes con membranas intactas ?

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Hipótesis

Las membranas corioamnióticas de las pacientes con ruptura prematura de membranas, muestran un aumento en la degradación de componentes de matriz extracelular, evidenciado a través de la elevación en la actividad enzimática de MMP-9 y en un aumento en la concentración de malonaldehído, como producto final de la lipoperoxidación llevada a cabo por la acción de especies reactivas de oxígeno presentes en tejido corioamniótico.

TESIS CON
FALLAS DE ORIGEN

II. Material y Método

II.2 Lugar y Duración.

El proyecto se propone a partir del análisis clínico detallado de un grupo de mujeres con diagnóstico de ruptura prematura de membranas (RPM), captadas en el servicio de Urgencias- Tococirugía del Instituto Nacional de Perinatología. El estudio inicia en Febrero del 2002 y termina en mayo del 2003.

II.2.- Grupos de Estudio.

Grupo A. Mujeres con diagnóstico probado de Ruptura Prematura de membranas, sin trabajo de parto; que ingresen con indicación de operación cesárea.

Grupo B. Mujeres sin Ruptura Prematura de Membranas con trabajo de parto o bien que culminen en cesárea.

Grupo C. Mujeres sin Ruptura Prematura de Membranas, sin trabajo de parto; que ingresen programadas para operación cesárea.

II.3.- Criterios de inclusión.

1. Mujeres con diagnóstico probado de ruptura prematura de membranas que ingresen para atención obstétrica de operación cesárea.
2. Mujeres entre 17 y 35 años
3. Mujeres sin ruptura prematura de membranas que ingresen a atención obstétrica de operación cesárea

TESIS CON
FALLA EN EL ORIGEN

4. Mujeres con embarazo comprendido entre 28 y 40 semanas de gestación
5. Mujeres sin Ruptura de Membranas, con trabajo de parto que ingresen para atención de parto o bien que culminen en operación cesárea.

II.4.- Criterios de no inclusión.

- a. Datos clínicos de corioamniotitis, hipertermia, deshidratación, mal estado general, taquicardia materna o fetal, líquido amniótico fétido, exámenes de laboratorio alterados compatibles con corioamniotitis
- b. Oligoamnios o polihidramnios
- c. Sufrimiento fetal agudo
- d. Presencia de alguna enfermedad autoinmune
- e. Alguna colagenopatía

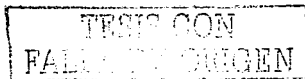
II.5 Variables

II.5.1 Independientes :

- Ruptura prematura de membranas: variable nominal dicotómica
- Corioamnios íntegro: variable nominal dicotómica

II.5.2. Dependientes:

- concentración de MMP-9 en explantes de membranas intactas
- concentración de MMP-9 en explantes de membranas con ruptura prematura
- concentración de malonaldehído en explante de membranas con ruptura prematura



II.5.3. Variables de control:

- edad gestacional
- infección intrauterina
- número de partos previos
- infecciones vaginales
- tiempo de ruptura de membranas
- infecciones vaginales

II.6. - Diseño del estudio

Tipo de investigación: Casos y controles

Observacional. Se identificará de manera unitemporal la presencia de marcadores de actividad colagenolítica y de estado de oxido/reducción, que guarda el ambiente amniótico en mujeres con y sin RPM.

Original: La exploración de la literatura internacional revela experimentos similares pero no se describe ninguno parecido.

Transversal : En este estudio las unidades de observación (explantes de membranas corioamnióticas y líquido amniótico) serán captados en un momento dado de acuerdo a la evolución y manejo obstétrico de la paciente. Esas características estarán presentes tanto en los casos como en los grupos controles.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

II.7.- Cálculo de la muestra:

Tamaño de la muestra.- Se calculó a través de una fórmula para dos medias, con el objeto de comparar las medias de dos grupos independientes: mujeres que presenten RPM y mujeres sin RPM. Suponiendo que las desviaciones estándar en las dos poblaciones son iguales, y que los tamaños de las muestras son iguales en los dos grupos,

$$n = 2 [(z_{\alpha} - z_{\beta}) \sigma / \mu_1 - \mu_2]^2$$

donde $\mu_1 - \mu_2$ es la magnitud de la diferencia en la concentración del estado de lipoperoxidación en el compartimento amniótico. El valor z de dos colas relacionado con α de 0.05 es ± 1.96 (valor crítico que divide el 95% central de la distribución z del 5% en las colas). El valor z en la cola inferior, relacionado con β de 0.30 es -0.525 (valor crítico que separa la parte inferior de 30% de la distribución z de 70% superior). Entonces,

$$n = 2 [(1.96 + 0.525) (5) / (1.5 - 4.2)]^2 = 42.3$$

n = 42 muestras.

II.8.- Determinación de estado de óxido/reducción.

A partir de explantes de membranas corioamnióticas obtenido de los grupos de estudio, se determinará la presencia de malondialdehído como producto final de lipoperoxidación llevada a cabo por acción de radicales libres. La metodología se describe a continuación en forma general.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1. Se Homogeneizará aproximadamente 1 g de explantes de membranas amnióticas. Se filtrará el homogeneizado obtenido con un cedazo y se realizará la siguiente mezcla de tubos.

Preparación de los tubos (volumen en ml)

Tubo	1	2	3	4
Homogeneizado de explante de membrana	0.0	0.5	0.5	0.5
Amortiguador	2	1.5	1.4	1.3
Antioxidante	-	-	-	2 gotas
H2O2	-	-	2 gotas	2 gotas
Agitar y esperar 10 minutos				

2.- Para la reacción agregando 1.5 ml. de ácido acético a cada uno de los tubos. Agitar y agregar 1.5 ml de ácido tiobarbitúrico.

3.- Tapar los tubos e incubar en baño maría a ebullición durante 30 minutos.

4.- Sacar los tubos y enfriar chorro de agua. Agregar 1 ml de KC1 al 2% y agitar.

5.- Añadir 5 ml de butanol a cada uno de los tubos, tapar y agitar fuertemente; por lo menos, durante un minuto.

6.- Centrifugar 5 minutos a 3000 rpm. Pasar a otro tubo la fase superior (color rosa) con la ayuda de una pipeta Pasteur.

7.- Leer la fase superior en espectrofotómetro a 640 nanómetros de longitud de onda.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

II.9.- Identificación de Metaloproteasas de Matriz Extracelular (MMP-9).

La identificación de Metaloproteasas de Matriz Extracelular (MMP-9), en los sobrenadantes provenientes de los extractos de tejido, será llevada a cabo mediante zimografía. Esta técnica, basa su principio en la separación de proteínas mediante electroforesis vertical (SDS-PAGE). Consiste básicamente, en adicionar gelatina porcina a un gel de acrilamida-bisacrilamida y separar las proteínas presentes bajo un campo eléctrico. Alícuotas de concentración conocida de proteína, provenientes del sobrenadante del cultivo de las membranas, de mujeres de los grupos control y de estudio, serán separadas bajo esta técnica, identificando la MMP-9 presente en la muestra según el peso molecular medido y comparando la migración de la enzima, con la migración de un estándar enzimático conocido.

Para llevar a cabo la identificación enzimática, una vez terminada la separación electroforética, se elimina del gel el SDS (dodecil sulfato de sodio) presente, lavándolo con una solución de Tritón X-100 al 2.5 %. Para observar la presencia de actividad enzimática, el gel se incuba por 24 horas a 37 °C, en una solución amortiguadora con las condiciones óptimas necesarias, para que la MMP-9 exprese actividad gelatinolítica.

Al término de la incubación, la actividad mostrada se identifica mediante tinción del gel con azul de Coomassie, observando una zona no teñida debido a la lisis generada por la enzima, al digerir la gelatina presente en el gel.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La identificación de la MMP-9, así como la determinación cuantitativa, de la actividad enzimática identificada en los sobrenadantes de las membranas amnióticas en cultivo, será analizada mediante densitometría óptica. Los resultados obtenidos, se analizarán estadísticamente utilizando pruebas para datos paramétricos.

Definición de variables operativas.

Edad gestacional. Establecida de acuerdo a la FUM y confirmada por cualquiera de los siguientes procedimientos: prueba de embarazo, ultrasonido .

Ruptura prematura de membranas: Salida de líquido amniótico a través de una solución de continuidad de las membranas ovulares, en embarazos mayores de 20 semanas y por lo menos 2 horas antes de la iniciación del trabajo de parto.

Embarazo pretérmino: edad gestacional mayor de 28 y menor a 36 semanas.

Embarazo a término: Edad de la gestación > de 37 y menor de 41 semanas

Trabajo de parto: Actividad uterina caracterizada por contracciones con una frecuencia de 3-4 contracciones en 10 minutos, cada una con una duración entre 45 a 60 segundos, y por lo menos 4 cm de dilatación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Corioamnioítis: Cuadro clínico caracterizado por hipertermia, deshidratación, mal estado general, taquicardia materna o fetal, secreción purulenta por vagina, líquido amniótico fétido, vagina hipertermia o una combinación de los signos señalados.

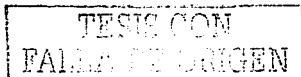
Dos de los siguientes signos: temperatura > o igual a 38 grados C., leucocitosis >15,000/mm cúbico, incremento rápido en la cuenta de leucocitos, incremento repentino de formas inmaduras de leucocitos, útero irritable, líquido amniótico fétido, taquicardia fetal > 160 latidos / in al menos en dos.

Periodo de latencia . Tiempo transcurrido entre la ruptura de las membranas y la resolución del embarazo.

Infección de vías urinarias: presencia de > de 100,000 colonias de bacterias en orina, independientemente de la sintomatología urinaria.

Cultivo cervicovaginal. Búsqueda del siguiente panel de bacterias:

Gram positivos, gram negativos aeróbicos y anaerobios, como también bacterias del tipo mycoplasma, Estreptococo del grupo B, *Ureaplasma urealyticum*, *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides*, *Chlamydia trachomatis* y *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides spp*, *Mobiluncus spp*.



III. Resultados.

Durante el período de estudio se incluyeron 88 mujeres que cumplieron los criterios de inclusión, las cuales se clasificaron en tres grupos: EL grupo A constituyó el grupo de estudio ($n=31$), mujeres que presentaron ruptura prematura de membranas sin trabajo de parto; grupo B ($n=24$) con trabajo de parto sin ruptura de membranas a las cuales se les realizó amniorrhexis en el momento indicado por el obstetra, y el grupo C ($n=33$) mujeres sin trabajo de parto y sin ruptura de membranas el cual constituyó nuestro grupo testigo negativo. Las características generales y obstétricas se muestran en la tabla 1.

El 100% de las pacientes que presentaron Ruptura Prematura de Membranas (RPM) fueron admitidas en el hospital en las primeras 24 horas de ocurrido el evento, realizándose operación cesárea en todas ellas en 25.8% la causa fue cesárea electiva (8/31) y en 41.9% se realizó por cervix desfavorable (13/31n), en 10 pacientes la causa de la cesárea fue DCP correspondiendo al 32.2%. En el grupo B la resolución del embarazo fue del 66.6 % por vía vaginal (16/24) y de 33.3% por operación cesárea (8/24), 87.5 % de ellas por falta de progreso de trabajo de parto (7/8). La vía de resolución fue abdominal para el total de las pacientes del grupo C, siendo programada en el 100% de los casos. Los resultados neonatales fueron favorables en los tres grupos de estudio.

La diferencia de edad, número de embarazos y cesáreas entre los grupos de estudio fue estadísticamente significativa con una $P < 0.05$, no encontrando significancia en cuanto al número de partos, abortos, peso del producto y edad gestacional con una P mayor de 0.05.

TABLA 1. Características generales y obstétricas de los grupos de estudio.

Característica	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Significancia
Edad* (años)	26.2 (17-34)	26.7 (17-35)	29.9 (18-35)	P= 0.013
Embarazo ¹	2 (1-4)	2 (1-6)	3 (1-5)	P=<0.001
Parto ¹	0 (0-2)	0 (0-4)	0 (0-2)	P=0.145
Aborto ¹	0 (0-2)	0 (0-2)	0 (0-2)	P=0.678
Cesárea ¹	0 (0-2)	0 (0-1)	1 (0-2)	P=<0.001 ²
Edad Gestacional al nacimiento del producto (semanas)	37.6 (29-40)	38.3 (34-40)	38.3 (36-40)	P=0.723
Peso del producto al nacimiento (g) ¹	3140 (1800-4040)	3201 (2470-4200)	3201 (2144-4640)	P=0.875

¹Datos mostrados en valor promedio con límites en paréntesis. ²Datos mostrados en mediana, con límites en paréntesis. Todos los valores comparados con Mann-Whitney Rank Sum Test

Se aplicó el análisis de varianza ANOVA para comparar las diferencias entre los grupos de las distintas variables, tomando en cuenta que un valor de $Q \geq 1$ refleja diferencia de la misma variable en los grupos. Los resultados se muestran en la tabla 2, 3 y 4.

Se observó diferencia notable en cuanto a edad en el grupo C (sin trabajo de parto sin Ruptura Prematura de membranas) comparado con el grupo A (con Ruptura Prematura de membranas y sin trabajo de parto) con un valor de $Q =$

2.82, y valor estadístico significativo de $P = 0.013$. La diferencia de edades del grupo C con el grupo B (sin Ruptura Prematura de membranas y con trabajo de parto) también fue notoria, sin embargo no tuvo significancia estadística con una $P > 0.05$. El valor de Q permaneció por debajo de 1 al comparar el grupo B con el grupo A. Tabla 2.

TABLA 2. Comparación de edad entre los grupos

Comparación	Valor de Q	Significancia $P < 0.05$
Grupo C vs Grupo A	2.822	$P = 0,013$
Grupo C vs Grupo B	2.043	No significativa
Grupo B vs Grupo A	0.580	No significativa

Análisis estadístico realizando mediante análisis de varianza ANOVA

Al comparar el número de gestas del grupo C (sin trabajo de parto sin Ruptura prematura de membranas) vs el grupo A (con Ruptura Prematura de Membranas y sin Trabajo de Parto) y B (Sin Ruptura Prematura de Membranas y con trabajo de parto) se observó diferencia similar entre ellos con respecto a el valor de Q con un valor de $P = < 0.001$. No existiendo diferencia al comparar el grupo B vs el grupo A con una $P = > 0.5$. Tabla 3.

TABLA 3. Comparación de gestas entre los grupos

Comparación	Valor de Q	Significancia $P < 0.05$
Grupo C vs Grupo A	3.692	$P = < 0.001$
Grupo C vs Grupo B	3.106	$P = < 0.001$
Grupo B vs Grupo A	0.332	No significativa

Análisis estadístico realizado mediante prueba de varianza ANOVA

En cuanto a el números de cesáreas previas en los tres grupos de pacientes la diferencia fue importante al comparar el grupo C de pacientes sin trabajo de parto (TP) y si Ruptura prematura de membranas con el grupo B (sin Ruptura

Prematura de Membranas con Trabajo de Parto) y el grupo A (sin Ruptura Prematura de Membranas sin Trabajo de Parto) con valor de $P = <0.001$ con notable incremento de cesáreas previas en el grupo C comparado con el grupo B. No se observó diferencia importante en el grupo vs grupo B con una $P = >0.5$.

No hubo diferencia para número de abortos $P = 0.678$, partos $P = 0.145$, edad gestacional $P = 0.723$ al comparar los tres grupos entre si. El peso del producto tampoco mostró significancia $P = 0.875$, siendo el menor peso obtenido de 1800 gramos de una paciente con RPM primigesta de 34 semanas de gestación, sin repercusión estadísticas. Tabla 4.

TABLA 4. Comparación de número de cesáreas entre los grupos

Comparación	valor de Q	Significancia $P < 0.05$
Grupo C vs Grupo B	5.671	$P = <0.001$
Grupo C vs Grupo A	4.269	$P = <0.001$
Grupo A vs grupo B	1.668	No significativa

Análisis estadístico realizado mediante prueba de varianza ANOVA

La (metaloproteinasa 9) MMP-9, se observó notablemente incrementada en cuanto a las unidades arbitrarias (UA) obtenidas, en el grupo de pacientes con Ruptura Prematura de Membranas (grupo A), y el grupo a quienes se les realizó amniorrexis (grupo B), en comparación con el grupo de pacientes programadas (grupo C) (4842.696 UA y 7009.417 UA respectivamente vs 3456.028 UA), observándose el mayor incremento en el grupo de pacientes con trabajo de parto con respecto a el grupo control (7009.417 UA vs 3456.028 UA), siendo estadísticamente significativo. $P = <0.001$ (tabla 5).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TABLA 5. Valor de MMP-9 entre los grupos.

Grupo	Media	Desviación Estándar
Grupo A	4842.696 (2608 – 10125)	± 1698.899
Grupo B	7009.417 (2718 – 11778)	± 2009.226
Grupo C	3456.028 (947 – 8954)	± 1784.984

$P \ll 0.001$

Análisis estadístico realizado mediante prueba de varianza ANOVA

El grupo C (sin Ruptura Prematura de Membranas sin Trabajo de Parto) comparado con el grupo B (con Trabajo de parto sin Ruptura Prematura de Membranas) fue el que presentó diferencia notable en la elevación de MMP-9, incrementándose 2 veces más que el grupo C comparado con el grupo A (con RPM sin TP), generando un valor diferente estadístico ($P < 0.001$).

Al compara el grupo A (sin trabajo de parto con Ruptura Prematura de Membranas), con el grupo B el valor de Q se incremento una vez con respecto a el grupo C vs el grupo A (ambos grupos sin trabajo de parto), con un valor de $P \ll 0.001$ estadísticamente significativo. Tabla 6.

TABLA 6. Comparación de niveles de MMP-9 entre los grupos.

GRUPOS	VALOR DE Q	SIGNIFICANCIA.
Grupo C vs Grupo B	11.498	$P \ll 0.001$
Grupo C vs Grupo A	3.962	$P \ll 0.001$
Grupo A vs Grupo B	9.512	$P \ll 0.001$

Análisis estadístico realizado realizado mediante prueba de varianza ANOVA

TEST CON
FALLA DE ORIGEN

El valor de malondialdehído no se vio incrementado de manera significativa en ninguno de los tres grupos con una $P = 0.203$. Ver tabla 7.

TABLA 7. Valor de malondialdehído micro Molar (μM) entre los grupos.

Grupo	Media (μM)	Desviación Estándar	Significancia
Grupo A.	0.0818 (0.0304- 0.622)	± 0.0114	N.S
Grupo B.	0.0611 (0.0135-0.309)	± 0.0538	N.S
Grupo C.	0.0525 (0.00970-0.236)	± 0.0660	N.S

$P = 0.203$

Análisis estadístico realizado mediante prueba de varianza ANOVA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

IV. Discusión.

La Ruptura de las membranas corioamnióticas antes del inicio de trabajo de parto ocurre en aproximadamente el 5 a 15 % de todos los embarazos. Diversos estudios han evaluado a mujeres con ruptura prematura de membranas a término y han sugerido que incrementa, la morbilidad materna y fetal. Se considera que la Ruptura Prematura de membranas es responsable del 20% a 50% de los nacimientos pretérminos, reportándose en nuestro grupo 2/32 pacientes con embarazo de 33 y 34 semanas, con Ruptura prematura de membranas, obteniendo productos con peso de 1800 y 2160 gramos respectivamente, ambos con evolución neonatal favorable.

En el estudio aquí presentado no fue posible obtener muestras provenientes, de pacientes con Ruptura Prematura de Membranas con edad gestacional temprana, ya que en el Instituto Nacional de Perinatología dichas pacientes se incluyen a el protocolo de manejo conservador, el cual consiste en la vigilancia intrahospitalaria de los criterios de Gibbs (19). Es importante mencionar que debido a ello las edades gestacionales de los tres grupos de pacientes fueron de término únicamente con tres pacientes de edad gestacional de 33, 34 y 36 semanas. A lo que atribuimos el hecho de no mostrar diferencia significativa en cuanto a edad gestacional y peso del producto al nacimiento; siendo un grupo homogéneo de pacientes para nuestro estudio en relación a edad gestacional.

En embarazos a término, La RPM no asociada a otras alteraciones (presentación anormal, prolapso de cordón, polihidramnios, etc.) se ha asociado en grupos de menor capacidad socioeconómica, por lo tanto se

relaciona con factores nutricionales, edad de la mujer, multiparidad, actividad física e infecciones. En nuestro estudio la edad de las pacientes mostró diferencia significativa al comparar el grupo C (sin RPM sin trabajo de parto) comparado con el grupo A (con RPM sin trabajo de parto), sin embargo atribuimos tal diferencia debido a que el grupo C son pacientes multigestas, con 2 o más cesáreas previas; las cuales se encontraban programadas para cirugía, siendo las mismas condiciones para la diferencia de edad del grupo B (con trabajo de parto sin RPM) al compararlo con el grupo C, aunque no fue de significancia estadística.

Al comparar el número de cesáreas y el número de gestaciones previas nuevamente el grupo C vs grupo A, y grupo C vs grupo B (con trabajo de parto sin RPM), reportó diferencia importante, sin embargo nuevamente mencionaremos la diferencia en los antecedentes obstétricos del grupo C con respecto a el grupo A y B, siendo el grupo A por lo general pacientes primigestas o secundigestas, con antecedente de una cesárea (5/31)

El antecedente de abortos previos no fue importante al comparar los tres grupos de estudio.

En la mayor parte de los embarazos la ruptura de membranas fetales, se produce espontáneamente a término durante la fase activa del parto (20). La degradación de la colágena es mediada primariamente por metaloproteinasas de La matriz extracelular (MMP), las cuales son inhibidas por inhibidores de tejido específicos y otros inhibidores de proteasas. Las metaloproteinasas de

TESIS CON
TA TESIS NO SALE
FALSA DEL ORIGEN

la matriz son una familia de enzimas producidas por varios tipos de células, que hidrolizan o dañan el tejido conectivo, actuando sobre sustratos específicos, ejerciendo un catabolismo efectivo en muchos componentes moleculares de la matriz extracelular. La expresión selectiva de la colagenasa tipo IV (MMP-9) durante el trabajo de parto y su sobre expresión en membranas de pacientes con RPM, ha sido documentada en diferentes estudios. En nuestro estudio la Ruptura Prematura de membranas (de término o pretérmino) fue asociada con un incremento significativo en la media de concentraciones, en relación a las pacientes sin RPM y sin trabajo de parto, lo cual se correlaciona con lo reportado por la literatura.

El mayor incremento de la actividad de MMP-9 se observó en las pacientes con trabajo de parto, a las cuales se les realizó amniorraxis, siendo un evento esperado ya que el análisis de membranas de mujeres en trabajo de parto demuestran que la MMP-9 se incrementa antes del trabajo de parto activo, siendo mayor su expresión durante el mismo. Las pacientes sin trabajo de parto y sin ruptura de membranas también tuvieron expresión de forma activa de MMP-9, aunque en menor concentración, suponemos que este fenómeno se debió a que todas las pacientes tenían edad gestacional de término, reportándose en la literatura el incremento de la MMP-9 y la disminución del tejido inhibidor de metaloproteínasa-1 (TIMP-1) en embarazos de término. (21).

La lipoperoxidación es uno de los efectos de los radicales libres, y se define como la interacción de estas moléculas con los ácidos grasos de los fosfolípidos de las membranas. Los componentes fosfolípidicos de las

membranas celulares son blancos altamente vulnerables a daño oxidativo debido a diferentes eventos agresores como, tabaquismo, drogadicción, e infecciones. De esta manera se producen cambios en la fluidez y permeabilidad de las membranas, o bien se induce a la activación de MMPs, disminuyendo la elasticidad y fuerza tensil de las mismas por medio de los dos mecanismos. Los procesos de peroxidación aumentan a medida que avanza el embarazo , de tal manera que al final de la gestación los mecanismos de protección son mas fuertes que la peroxidación.

Diversos autores han mencionado que la formación de malondialdehido se incrementa durante el primer trimestre del embarazo , con aumento progresivo durante el tercer trimestre. Se supone que la lipoperoxidación normal durante el embarazo está regulada por una adecuada respuesta antioxidante.

Al reportarse aumento en las MMP-9 en embarazos pretérmino y Ruptura Prematura de Membranas (RPM), se puede asumir que los mecanismos normales de degradación a término, están presentes en las membranas de las mujeres con RPM. Esto refuerza la idea de que en la RPM, se encuentran desfasados la actividad de dichos mecanismos.

Se desconoce cuales pudieran ser las causas involucradas en dicho fenómeno, sin embargo se sabe que la infección cérvico vaginal puede ser relacionada entre un 12 a 40 %. Se asume que la presencia de un agente patógeno es capaz de despertar la respuesta inflamatoria local y/o sistémica,

mecanismo que tiene relación discreta con diversos mecanismos de inicio de trabajo de parto.

La inflamación ocasionada por la infección cérvico vaginal, ocasiona que células inflamatorias locales (polimorfonucleares, macrófagos), inicien con liberación de citocinas proinflamatorias (TNT-alfa, IL-1 beta, IL-6) las cuales son potentes inductores de la producción de MMP-9 por parte de células corioamnióticas y deciduales. La liberación de MM-9 por parte de las células de la interfase materno-fetal, es capaz de disminuir la resistencia mecánica de las membranas ovulares, o degradar los componentes de la matriz extracelular.

Por otro lado, la presencia de TNT-alfa e IL-1-beta por parte de las células mononucleares, inducen la liberación de especies reactivos de oxígeno, en el proceso denominado estrés oxidativo, el cual de no ser controlado adecuadamente por los antioxidantes, son capaces de promover diversos efectos biológicos capaces de disminuir la fuerza tensil de las membranas amnióticas.

Por un lado el peróxido de hidrógeno es capaz de promover la desnaturalización de las cadenas fibrilares de colágena, presentes en la membrana amniótica. Asimismo, altas concentraciones de peróxido de hidrógeno pueden inducir a que en células locales, se induzca el proceso de muerte celular denominado apoptosis. Así como la liberación de MMP-9 por parte de células del corion y amnios. Ambos mecanismos pueden promover el

aumento del ablandamiento de las membranas, lo que bajo condiciones específicas dar la aparición de RPM.

La presencia de estrés oxidativo de oxígeno, es capaz de promover la lipoperoxidación de componentes lipídicos de las membranas celulares, lo que conduce a la aparición del compuesto denominado malondialdehído, el cual es un marcador final del estado de oxidación que presenta un tejido o fluido. En nuestro trabajo fue posible observar cierta tendencia a que dicho compuesto se encuentre aumentado en, las membranas con Ruptura Prematura de Membranas, en comparación con aquellas membranas provenientes de mujeres sin trabajo de parto sin Ruptura Prematura de membranas. Esta tendencia de mayor concentración de malondialdehído, también fue observada en las membranas provenientes de mujeres con trabajo de parto sin Ruptura Prematura de Membranas, lo cual guarda similitud con el valor obtenido de actividad de MMP-9 en este grupo de mujeres, y con las que presentaron RPM. así pareciera que el aumento del estrés oxidativo observado en las mujeres con embarazo a término, forma parte de los mecanismos desencadenados con la culminación del mismo.(22)

Este planteamiento puede relacionar la producción de citocinas proinflamatorias por parte de células de estirpe inmunológica y no inmunológica, las cuales inducen la liberación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno. Dichas moléculas pudieran ser los mensajeros moleculares empleados en la interfase materno-fetal, para indicar el término de la gestación e inicio de los mecanismos de terminación del embarazo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Pensamos que la ausencia de diferencia en la concentración de malondialdehído observada en las membranas de pacientes con RPM y aquellas provenientes de pacientes sin trabajo de parto, se deba a los mismos eventos observados en membranas de pacientes con embarazo a término, ya que el lugar específico donde se presentó la ruptura no pudo ser evaluado por aspectos técnicos. Por lo que quizá en la región cercana al sitio de ruptura, la concentración de malondialdehído era mucho mayor.

Se ha descrito que ciertos hábitos se pueden asociar a la presencia de estrés oxidativo y RPM. Así el fumar, consumo de drogas, inadecuado consumo de alimentos ricos en antioxidantes (frutas, verduras, etc), se relaciona con la aparición del fenómeno. Por otro lado esquemas de suplementación de vitamina "C y E", han demostrado disminuir la prevalencia de RPM en estudios de seguimiento. Lo cual puede tener relación con un abatimiento del estrés oxidativo, sistémico y local; condición que potencialmente es capaz de asociarse a Ruptura Prematura de Membranas.(23)

Se han hecho grandes esfuerzos para dilucidar los mecanismos de Ruptura Prematura de Membranas en mujeres sanas, sin embargo aun se requiere de diversas investigaciones, especialmente en procesos bioquímicos y moleculares, como los procesos que involucran este fenómeno en embarazos normoevolutivos, o aquellos procesos endógenos que pueden ser acelerados, por factores patógenos exógenos, (hábitos y costumbres, virulencia de patógenos, etc.). Sin embargo este trabajo, genera evidencias bioquímicas

relacionados con el evento, que pueden dar información con observaciones clínicas reportadas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

V. Conclusiones.

- 1.- En los embarazos con Ruptura Prematura de Membranas la actividad de MMP-9 se vio notablemente incrementada en comparación con el grupo control (grupo C; pacientes sin RPM sin trabajo de parto), proporcionando evidencia del incremento de la actividad colagenolítica.

- 2.- El incremento de la actividad e MMP-9 en pacientes con trabajo de parto sin Ruptura Prematura de Membranas, presupone un evento normal registrado durante la fase activa, el cual fue evidenciado en las membranas provenientes de mujeres con trabajo de parto a término.

- 3.- Se observó una tendencia al incremento de malondialdeído, siendo mayor en el grupo con Ruptura Prematura de Membranas (RPM), aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

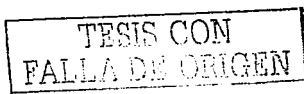
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VI. Bibliografía

1. Normas y Procedimientos de Obstetricia y Ginecología. Instituto Nacional de Perinatología. 1988, Ed. Marketing y publicación en México
2. Pollen W.J., Batty, K. The aetiology of premature rupture membranes. Clin Obstet Gynecol 1998; 41: 810-6
3. Rib, Sherer. Maternal and neonatal outcome associated with prolonged premature rupture of membranes below 26 weeks' gestation. Am J of Perinatol 1993; 10:369-73
4. Kuekinen R., Kovisto M. Perinatal and neonatal outcome and late pulmonary sequelae in infants born after preterm premature rupture of membranes. Obst and Ginecol 1998 92; 4:408-15.
5. Villagrana R., Ortiz F. Ruptura prematura de membranas: el reto continúa. Rev Perinatología 1995; 10:19-22.
6. Steven RA. Epidemiology of premature Rupture of the fetal Membranes. Clinical Obst and Gynecol 1991;34:685-90.
7. Davidson KM. Detection of premature Rupture of the membranes. Clin Obst Gynecol 1991; 34:715-21.
8. Maymon E., Romero R., Pacora P. Evidencee for the participation of interstitial collagenase (matrix metalloproteinase 1) in preterm premature rupture of membranes. Am J Obstet Gynecol 2000; 183:914-20.
9. Maymon E., Romero R., Pacora P. Human neutrophil collagenase (matriz metalloproteinase 8) in parturition, premature rupture of the membranes, and intrauterine infección. Am J Obstet Gynecol 2000; 183:94-9.
10. Mc Parkland Pc., Taylor DJ. Myofibroblast differentiation in the connective tissues of the amnion and corion of term human fetal membranes-implications for fetal membrane rupture and labour. Placenta 2000; 21:44-53.
11. Vadillo F., Hernández A., Meraz N. Participación de las metaloproteasas de matriz extracelular en la ruptura prematura de membranas fetales : un modelo fisiopatogénico novedoso. Ginec Obst Mex 1992; 60:79-85.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

12. Venge N., Pohjavuori ML. Phagocyte activation in preterm infants following premature rupture of the membranes or chorioamnionitis. *Acta pediátrica* 2000;89:1207-2000.
13. Athayde NE., Romero R., Maymon E. A role for matrix metalloproteinase-9 in spontaneous rupture of the fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1998 179:1248-53.
14. Maymon E., Romero R., Pacora P. Evidence of in vivo differential bioavailability of the active forms of matrix metalloproteinases 9 and 2 in parturition, spontaneous rupture of membranes, and intra-amniotic infection. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:887-94
15. Parry S., Strauss F. Premature Rupture of the fetal membranes. *New Eng J Med* 1998; 338:663-70.
16. Woods JR. Pathobiology: oxidants stress, angiogenesis and neoplasia. *Placenta* 2001; 22:S38-43.
17. Menon F., Bryant C. Programmed cell death (apoptosis) as a possible pathway to metalloproteinase activation and fetal membrane degradation in premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2000; 182:1468-76.
18. Makhseed RR., Azizieh S. Cytokine patterns in maternal blood after premature rupture of membranes. *Obstetrics and Gynecology* 2001; 98:122-6.
19. Arias F., González A. Recent advances in the pathophysiology and management of preterm premature rupture of the fetal membranes. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1999;11:141-147.
20. Vadillo F., González G., Mecanismos moleculares de la patogénesis de la Ruptura Prematura de membranas amnióticas. *Gineco Obstet Mex.* 1990;58:155-163.
21. Ortega F., Arechavaleta F., Apoptosis y degradación de matriz extracelular en corioamnios durante el trabajo de parto y en la ruptura prematura de membranas. *Ginec Obst Mex* 1988;66:202-207.
22. French J., McGregor J., The pathobiology of premature Rupture of membranes. *Seminars in perinatology* 1996;20:244-368.
23. Reyes G., Meléndez M., Importancia de los radicales libres durante el ciclo reproductor. *Ginec Obst Mex.* 1998;66:371-376.



 TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN