



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

11217
68

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

POLIMORFISMO DE TNF-ALFA (POSICION -308) Y SU ASOCIACION CON AGENTES BACTERIANOS IDENTIFICADOS EN TRACTO CERVICOVAGINAL EN PARTO PRETERMINO Y RPM.

[Handwritten signature]
FACULTAD DE MEDICINA
UNAM

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA

PRESENTA:

DR. JOSE ENRIQUE ISLAS VARELA

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

PROFESOR TITULAR

DR. JOSE ROBERTO AHUED AHUED

DIRECCION DE ENSEÑANZA

[Handwritten signatures]

TUTORES:

DR. CESAR HERNANDEZ GUERRERO
DR. CARLOS RAMIREZ ISARRARAZ

[Handwritten signature]



INPer

MEXICO D.F.

2004

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

2003 1



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.



INDICE

INTRODUCCIÓN	2
EPIDEMIOLOGIA	3
POLIMORFISMO DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL	11
OBJETIVO GENERAL	13
OBJETIVOS ESPECIFICOS	13
HIPÓTESIS	15
JUSTIFICACIÓN	15
MATERIAL Y METODOS	16
IDENTIFICACIÓN DE POLIMORFISMO DEL PROMOTOR DE TNF ALFA	16
DEFINICIONES OPERATIVAS	16
POBLACIÓN	17
CRITERIOS DE INCLUSIÓN	17
CRITETRIOS DE EXCLUSIÓN	17
OBTENCIÓN DEL PRODUCTO	18
VARIABLES DE ESTUDIO	19
RESULTADOS	20
DISCUSIÓN	29
CONCLUSIONES	35
BIBLIOGRAFÍA	36

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

NOMBRE: Rose Isela Varela

FECHA: 8-OCT-03

FIRMA:

TESTEADO EN
FALLA DE ORIGEN



I. INTRODUCCIÓN.

Se designa a la ruptura prematura de membranas pretérmino, como 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 la iniciación del trabajo de parto.(1) Es una complicación que con frecuencia precede al parto pretérmino y presenta numerosos aspectos al clínico en cuanto al momento y la forma de nacimiento, así como el tratamiento coadyuvante.

La RPM es el resultado de una amplia variedad de mecanismos biopatológicos que actúan en forma individual o conjunta. La edad gestacional al momento de la ruptura tiene implicaciones notables en cuanto a la causa, consecuencias y tratamiento, cuando ésta sucede antes del término, se transforma en una de las principales causas de complicaciones relacionadas con la prematuridad, como puede ser el síndrome de dificultad respiratoria, enfermedad de membrana hialina, hemorragia intraventricular, enterocolitis necrotizante y la sepsis, ésta última con posibilidades de presentarse también en la madre. Existe mucha controversia respecto al tratamiento a elegir en las pacientes con ruptura de membranas en embarazos pretérmino. El tratamiento conservador, incrementa las posibilidades de complicaciones, principalmente de tipo infeccioso, pero brinda la posibilidad de una mayor madurez pulmonar del feto, el manejo intervencionista, con interrupción del embarazo, disminuye el riesgo de complicaciones, infecciosas pero incrementa la incidencia de inmadurez pulmonar.



Las membranas corioamnióticas constituyen un tejido que se ha reconocido como el órgano blanco de la patología del embarazo denominada ruptura prematura de membranas (RPM). Esta patología de manera característica las membranas se rompen en ausencia de otros eventos del trabajo de parto y resultan, en por lo menos en una tercera parte de los casos, en nacimientos pretermino. Dado que complica entre el 10 y 15% de todos los embarazos, la RPM constituye un problema de salud debido a la alta incidencia de complicaciones que se asocian a los neonatos y a sus madres.

1.1.- EPIDEMIOLOGIA DE LA RPM.

La incidencia de RPM depende de la edad gestacional en que se presente, aunque también difiere en las publicaciones existentes. Según la ACOG, la RPM en los embarazos a término se presenta en alrededor de 10%.(2,3)

En el INPer su incidencia es de 9.8%. (3) En las gestaciones de menos de 37 semanas, la incidencia de RPM disminuye hasta el 1 a 4%. (4)

El parto pretérmino complica 10% de los embarazos en los Estados Unidos y es el responsable del 75 al 80% de la mortalidad perinatal.(5) De los nacimientos pretérmino la RPM está presente en el 40 al 50% de los casos.(6,7)

En los embarazos a término con RPM el 90% se resolverá en las próximas 24 hr. y en los pretérmino el 90% en la semana siguiente a la RPM.



Las complicaciones tanto maternas como fetales, están inversamente relacionadas con la edad gestacional en la que se presente la RPM. En la madre los procesos infecciosos como la corioamnioítis y deciduoendometritis, son las que guardan mayor importancia. En el neonato, las más frecuentes, son el síndrome de dificultad respiratoria, la enfermedad de membrana hialina y la sepsis.

La relevancia de la RPM como problema de salud, dada su frecuencia y complicaciones asociadas ha ameritado gran número de estudios encaminados a identificar su fisiopatología y eventualmente intervenir en la historia natural de la enfermedad.

El avance de esta área ha permitido generar sistemas para establecer el resto de desarrollar RPM basados en el nivel socioeconómico, historia reproductiva, hábitos higiénicos y complicaciones del embarazo y que sin embargo no han sido de utilidad para disminuir la incidencia de la enfermedad. 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 podrían sumarse o potenciarse para inducir aparición de esta complicación del embarazo.

De este modo, el estudio de los determinantes de la RPM ha señalado a la infección cervicovaginal e intrauterina como una explicación causal de esta complicación del embarazo. De este modo, el estudio de los determinantes de la RPM ha señalado a la infección cervicovaginal e intrauterina como una explicación



causal de esta complicación. Y es precisamente en las poblaciones más pobres en las que las tasas de infecciones son mayores y sus complicaciones peores.

La aceptación amplia de la hipótesis del origen infeccioso de la RPM 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 a través del proceso inflamatorio consecuente. Por otro lado, diferentes autores han encontrado asociación en diferentes estudios clínicos, entre la presencia de infección cervicovaginal y o intrauterina y el desarrollo de RPM mostrando cierta consistencia en la asociación es explicativa en términos clínicos puesto que la infección se puede documentar solamente entre el 30 y 40% de todos los casos de RPM y solo el 25 a 30% de mujeres en que se documenta la infección intraamniótica, desarrollan RPM posterior. De todas las causas por las que ocurre la RPM, la infección bacteriana tiene más probabilidades de originar la terminación del embarazo. En pacientes con RPM se ha encontrado que hasta en 40% tienen el diagnóstico de corioamnioítis y 70% cumplen con criterios histopatológicos del proceso.

Se han realizado estudios in vitro de los efectos de las proteasas, colagenasas y elastasas bacterianas sobre las membranas corioamnióticas. Algunas bacterias pueden producir enzimas que degradan directamente la colágena y su matriz. Agentes como la *Pseudomona aureoginosa*, *Staphilococcus aureus*, *Streptococcus agalactidae*, *Bacteroides melaninogenicus* y *Enterobacteriaceae*, producen colagenasa.(7)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Estudios epidemiológicos, clínicos, histológicos, microbiológicos y de biología molecular sugieren que la infección local e inflamación pueden guardar un papel primario o secundario en la patogénesis de la RPM. También se ha sugerido la asociación entre infección uteroplacentaria, RPM y parto pretérmino. Se ha observado un incremento de RPM en las pacientes de bajo nivel socioeconómico, esto probablemente debido a una asociación con el incremento de infección del tracto genital y enfermedades de transmisión sexual. Cederqvist y cols (10), observaron el incremento de los niveles de IgA, IgM y la presencia de datos clínicos entre 1 a 12 hrs después del inicio de la RPM y en las 72 hrs previas a la RPM, lo cual sugiere que la infección se presenta antes de la RPM.

Vadillo y cols, encontraron un incremento en los niveles de metaloproteinasa-9 cerca del sitio de la ruptura de membranas, en pacientes con labor, a diferencia de pacientes a las cuales se les realizó cesárea sin trabajo de parto.(14) Con la presencia de bacterias se forman productos intermedios como radicales libres, que causan destrucción local de tejidos, necrosis y rotura de enlaces peptídicos en la colágena.(15) El ácido resultante desestabiliza las membranas lisosomales endógenas y potencializa la eficacia de las bacterias para desactivar las inmunoglobulinas A y G, en el moco cervical. El amnios puede reaccionar a las bacterias con la producción de citocinas, entre éstas la IL-6 e IL-8, las cuales son introducidas al medio por leucocitos polimorfonucleares. Hasta hace poco se suponía un origen materno de la reacción leucocítica; sin embargo ya se ha comprobado el origen fetal de éstas células.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Los leucocitos fetales producen IL-1B, otra citosina, en concentraciones que superan las de las células adultas, ésta hace que las células amnióticas produzcan prostaglandina E2, la cual es un potente oxitócico, con el incremento de la actividad uterina consiguiente es más probable que se produzca la RPM.(7)

También se han considerado a las fosfolipasas A2 y C, que se encuentran en amnios y corion, y por interferencia bacteriana, degradan los fosfolípidos que forman parte de las membranas, junto con el calcio, los productos terminales de los fosfolípidos, prostaglandinas F2 y E2, originan contracciones uterinas y predisponen a RPM.(16)

Recientemente se identificó un tipo específico de colágena V en líquido amniótico, encargadas del anclaje de las membranas basales del amnios y sus podocitos a la matriz extracelular avascular.(17) Se ha propuesto que una señal del feto, muy probablemente producida en reacción a bacterias en estado patológico, o como parte del proceso de maduración en embarazos normales, estimula la producción fetal de colagenas V. Posteriormente con la desorganización de la membrana basal, en donde se afectan tanto el sello a prueba de agua, como la barrera bacteriostática culminando con RPM.

Para explicar estas discrepancias, recientemente se han sugerido la posibilidad de que el modo de respuesta individual a la infección podría condicionar el desarrollo de las complicaciones asociadas al evento infeccioso, como el caso de RPM en asociación a las infecciones cervicovaginales. Este



modo de respuesta individual ha sido correlacionado con algunos marcadores genéticos y así, ha sido posible ligar la presencia de ciertos polimorfismos de genes de mediadores inflamatorios como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alta), la interleucina -1beta (IL-1beta) y al antagonista del receptor de IL-1 con cuadros clínicos infecciosos en los que de modo característico se documentara la existencia de respuesta inflamatoria exagerada, en comparación con la que es posible documentar en individuos sin el polimorfismo específico. Esta respuesta inflamatoria se puede catalogar como exagerada, por la concentración aumentada de diferentes integrantes de la red de mediadores y por los efectos biológicos derivados de su presencia, que correlacionan con morbimortalidad aumentada.

La asociación entre el consumo de tabaco y el bajo peso al nacer, se ha considerado. Existen estudios que relacionan el tabaquismo como factor de riesgo para partos pretérmino y RPM. Existe una prevalencia en un estudio de población entre el 4 al 14% en parto pretérmino, atribuido al tabaquismo materno.(18). Evaldson y cols, mediante casos controles encontraron que el consumo de más de 10 cigarrillos por día, podría ser significativo para la RPM y partos pretérmino.(19). Existen reportes que manifiestan que el riesgo para la RPM por tabaquismo puede ser reducido al suspenderlo antes del embarazo o bien durante el primer trimestre. Sin embargo, Gosselink y cols (20) no encontraron asociación entre el tabaquismo (>10 cigarrillos por día) y la RPM en partos a término.

La nicotina, cotinina, monóxido de carbono, hidrógeno de cianina, óxido nítrico y otros componentes del tabaco, son distribuidos en el tejido y fluido en



todo el cuerpo. El tabaquismo puede incrementar el riesgo para RPM y parto pretérmino, esto por medio de un incremento en el mecanismo de proinflamación, los componentes del tabaco, inhiben la relación de activación plaquetaria, (PAF), factor-acetil hidrolasa por macrófagos de la decidua. El PAF es un potente proinflamatorio y mediador del inicio del trabajo de parto, así como estimulador de la producción de prostaglandinas E2 del corioamnios, produciendo contracción uterina. El tabaco puede producir disminución de aminoácidos en el trofoblasto, lo que interfiere en la síntesis de proteínas y en la integridad del amnios y corion. Además, el tabaquismo se ha relacionado con vasculopatía, isquemia, deciduitis y necrosis. Se ha encontrado que los niveles de ácido ascórbico están reducidos en las pacientes con tabaquismo, algo que afecta en la biosíntesis de células epiteliales de colágenas del amnios.

El déficit nutricional en relación a la RPM, guarda importancia, ya que se ha encontrado que para su prevención, el soporte nutricional adicional puede ser una alternativa. Por lo que se ha considerado que la deficiencia nutricional preconcepcional, es un factor de riesgo para RPM y RPM pretérmino.

La deficiencia de Zinc tiene importancia en la RPM y en la RPMP; ya que interfiere en la estabilización de las biomembranas, y es esencial en la estructura de muchas enzimas incluyendo las metaloproteinasas, DNA y RNA polímeras; además tiene función antibacteriana en el líquido amniótico. Killholmay Cois demostraron una disminución significativa en los niveles séricos de zinc en mujeres con RPMP en comparación con embarazadas a término sin RPM.



El cobre también guarda importancia, ya que es componente esencial de lisis oxidativa, la enzima responsable de catabolización de fibras solubles durante la maduración de colágena y elastina; por lo que es importante en la integridad del tejido conectivo. Artal y cols evaluaron los niveles de cobre en sangre materna y fetal, encontrando niveles significativamente bajos en gestaciones con RPMP en comparación de aquellas sin RPM.

La deficiencia de vitamina C se ha postulado en la patogénesis de la RPMP. La función del ácido ascórbico interfiere en la biosíntesis de colágena. Los niveles bajos de ácido ascórbico pueden disminuir la fuerza y elasticidad de las membranas corioamnióticas y puede contribuir a la RPMP; además, el ácido ascórbico es de gran importancia para la función inmunológica normal y se encuentra acumulado tanto en leucocitos como en células del epitelio cervical en mujeres sanas. Los procesos infecciosos, tabaquismo y el estrés pueden disminuir su producción. Trabajos que han estudiado los niveles bajos de ácido ascórbico, independientes o en combinación con la producción de infección del tracto vaginal, tabaquismo, estrés materno, o bien con otros factores sobre la biosíntesis de colágenas e integridad corioamniótica, han encontrado relación con la RPM.

En pacientes con RPM o bien RPMP han presentado niveles bajos de ácido ascórbico en los leucocitos, comparados con casos controles.(3) respecto de las



pacientes cuya dieta se basa principalmente en frutas y vegetales, no se ha encontrado correlación con los niveles de ácido ascórbico en leucocitos (3)

Por otro lado diferentes estudios han caracterizado la microbiología asociada a los casos complicados con RPM y aunque existen algunas diferencias entre los distintos países, en lo general coinciden en señalar que los gérmenes que se aíslan de modo más común son el Estreptococo del grupo B, Ureaplasma Urealyticum Micoplasma y aquellos asociados a la vaginosis bacteriana. Pero una vez más, es importante señalar que la presencia de cualquiera de estos microorganismos no es sinónimo de desarrollo de RPM y una posibilidad que hasta ahora no ha sido explorada de modo sistemático en la literatura es la caracterización de la virulencia de los diferentes serovares que se conocen para cada uno de ellos.

1.2 Polimorfismo del Factor de Necrosis Tumoral-alfa (TNF- α).

El TNF- α es una proteína de 17.3 kiloDaltones (kD) que desempeña un papel central en la respuesta inmunológica, debido a la multitud de acciones que media en contra de diversos agentes patógenos. Clásicamente es sintetizada por monocitos/macrófagos, pero puede ser producido por otros tipos celulares (linfocitos T y B).(20)

Diversos estudios (20-23), han reportado que el gen de TNF- α presenta un polimorfismo identificado por una substitución de base (Adenina por Guanina), en la región promotora/potenciadora (posición -308 del gen). Denominándose en

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



forma general TNF α -1, al gen original y TNF α -2 al gen que presentaba la substitución de base. Gilson en 1997, comparó la capacidad de síntesis de los alelos de TNF- α mediante el uso de líneas celulares transfectadas (células B, Raji), con segmentos del gen que incluían la región promotora/potenciador de los alelos 1 y 2 de TNF- α , cuantificando la síntesis mediante genes reporteros (ensayo de Cloranfenicol acetiltransferasa). Los resultados obtenidos, permitieron identificar una mayor capacidad de síntesis a nivel transcripcional de la proteína, al encontrarse presente el alelo 2 en comparación con el valor de transcripción del alelo 1 de TNF- α (figura 2). Por otro lado, al utilizar células mononucleares en cultivo estimuladas con LPS, ha sido posible observar una mayor síntesis de TNF- α , en aquellas células que presentan el alelo 2 de la citocina de manera homocigota. (23)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



II.OBJETIVO GENERAL.

Determinar la relación entre la presencia de agentes patógenos y el polimorfismo de la citocina TNF alfa en un estudio longitudinal de mujeres embarazadas de mas de 20 semanas y su relación con el desenlace del embarazo.

II.1OBJETIVOS ESPECIFICOS.

1.- Determinar la presencia por cultivos de Ureaplasma urealyticum, micoplasma hominis, Gardnerella vaginalis, Clamidia, Candida, Estreptococo Grupo B. Apartir de exudado cervicovaginal .

2.- Determinar la presencia de los alelos 1 y o 2 en el promotor del Gen de la citocina TNF alfa.

3.- Correlacionar la presencia de agentes bacterianos patógenos y el polimorfismo genético, con la presencia de RPM y parto pretérmino.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



III. HIPÓTESIS.

Existirá una asociación entre la presencia del alelo TNF*2, con la presencia de PPT y/o RPM, al identificarse bacteriológicamente en ámbito cervicovaginal, la presencia de por lo menos un microorganismo de los incluidos en el presente trabajo.

IV. JUSTIFICACIÓN.

Considerando la incidencia de RPM que se reporta en la Bibliografía mundial de hasta un 32% y la implicación económica que representa si tomamos en cuenta que el 40% de los partos pretérminos son determinados por esta entidad, el presente estudio tiene por objeto el sentar algunas bases científicas para comprender mejor la etiopatogenia de esta entidad, para en un futuro brindar alternativas terapéuticas para disminuir los riesgos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



V.- MATERIAL Y METODOS.

V.1 Identificación de Polimorfismo del Promotor de TNF- α .

La identificación de los alelos de la citocina TNF- α , se llevó a cabo mediante técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Muestras de leucocitos periféricos, serán empleadas para obtener DNA utilizando el reactivo comercial DNazol.

La identificación de los alelos de TNF- α , se basa en la amplificación de un segmento de 108 pares de bases de DNA que incluye la posición -308 del gen. De estar presente el alelo 1 (ausencia de la transición de base) se crea un sitio de restricción para la enzima Nco I en el producto amplificado. De estar presente el alelo 2 (presencia de transición Adenina por Guanina) el sitio de restricción para la enzima Nco I no es creado, al llevar a cabo la amplificación del DNA.

Los productos de amplificación, son digeridos con la enzima Nco I durante 24 h en condiciones óptimas de actividad. El DNA digerido, es separado en geles de acrilamida al 8 % y teñido con bromuro de etidio, identificando la presencia del alelo 1 de TNF- α , al observar dos fragmentos de DNA; uno de 80 pb y otro de 27 pb, debido a la digestión llevada a cabo por la enzima Nco I. De estar presente el alelo 2, se observa un fragmento único de 107 pb, debido a pérdida del sitio de restricción para la enzima durante la amplificación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



V.2 -DEFINICIONES OPERATIVAS.

- RPM . La salida de líquido amniótico a través de una solución de continuidad de las membranas ovulares sin trabajo de parto, su diagnóstico se establecerá por Historia Clínica y espéculos copia con maniobra de Tarnier, en su caso. La presencia de líquido amniótico en vagina será confirmado por el menos dos de los siguientes métodos: cristalografía, papel de nitrazina y determinación de alfa-fetoproteína.
- Trabajo de parto Se define como la presencia de actividad de contracción uterina aumentada en frecuencia, intensidad y duración, acompañada de modificaciones cervicales. El trabajo de parto a término se define con edad gestacional de 37 a 40 semanas.
- Edad gestacional se calcula a partir de la fecha de última menstruación y será confirmada por ultrasonido.

V.3 POBLACIÓN.

GRUPO DE ESTUDIO.

1. Mujeres que acudan a su valoración de 1era vez a la Consulta Externa del Instituto Nacional de Perinatología con un embarazo entre las semanas 18 a 22 que acepten participar en el estudio por informe escrito confirmado.

V.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

1. Embarazo único confirmado por Ultrasonografía

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



2. Edad entre 15 y 40 años.
3. Que al momento de la resolución del embarazo sean clasificadas en cualquiera de los grupos siguientes, conforme a las definiciones operativas mencionadas arriba.

V.5 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN..

1. Embarazo con producto gemelar
2. Pacientes cardíacas, diabéticas hipertensas, lúpicas, pacientes con enfermedades autoinmunes.

Las mujeres que reúnan los criterios anteriores serán invitadas a participar en el estudio mediante una carta de consentimiento. A su ingreso a la consulta externa se realizarán las siguientes maniobras.

1. Examen clínico e historia clínica completa.
2. Examen de genitales externos vagina y cérvix.
3. Pruebas de laboratorio.
 - a. Toma de exudado cervicovaginal para cultivo de secreciones con búsqueda selectiva de Ureaplasma Urealiticum, Chlamydia trachomatis, Gardnerella vaginalis, Candida albicans, Micoplasma hominis, Trichomona vaginalis, Streptococo del grupo B. El cultivo positivo de cualquiera de estas especies será seguido de la identificación del serovar específico, su crecimiento y formación de un cepario.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



- b. Examen en fresco para identificar vaginosis bacteriana, Trichomona vaginalis y Gardnerella vaginalis.
- c. Biometría hemática completa con cuenta diferencial.
- d. Purificación de leucocitos de 5ml de sangre venosa periférica de la misma toma de BH para purificación de DNA.
- e. Identificación de los polimorfismos de los genes TNF-alfa.

V.6 OBTENCIÓN DE PRODUCTO BIOLÓGICO.

1. Se colocara a la paciente en posición de litotomía posteriormente se coloca espejo vaginal y se obtendrá exudado cervicovaginal utilizando hisopo estéril mediante rotación desde orificio cervical interno en forma circular hasta vagina de manera distal a proximal. Las muestras serán colocadas en medios adecuadas para transporte y posterior análisis en el laboratorio de bacteriología del departamento de Infectología e Inmunología perinatal.
2. Posterior a esto se realizara la toma de muestra de sangre de forma habitual y se transportara en medios específicos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



V.7. VARIABLES EN ESTUDIO

VARIABLE INDEPENDIENTES.

1. Alelos de TNF-alfa.

VARIABLES DEPENDIENTES.

1. Presencia o ausencia de agentes patógenos en cultivo de fluido cervicovaginal.
2. Determinar la presencia de RPM y/o PPT

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



VI.- RESULTADOS.

Se incluyeron un total de 105 pacientes captadas en el Instituto Nacional de Perinatología, en el periodo de Febrero 2002 a Febrero 2003 de las cuales encontramos 66 mujeres con embarazo a termino, 17 que presentaron embarazo pretérmino, y 22 con ruptura prematura de membranas.

La edad promedio para las mujeres con embarazo a termino, fue de 25 años con un valor mínimo de 14 y máximo de 46. Para las mujeres con parto pretermino el valor promedio fue de 26.167 con un mínimo de 15 y un máximo de 40 para Ruptura prematura de membranas la edad promedio fue de 24.76 con un mínimo de 14 máximo de 40 con una $P = 0.722$.

El número de gestas en promedio en pacientes a termino fue de 2, pretermino fue de 3 y Ruptura prematura de membranas de uno, con una $P = 0.102$. De la presencia de Partos para parto a termino fue mediana de 1 mínimo en 0 máximo de 7 $P = 354$, parto pretermino fue de 1 mínimo de 0 máximo de 4 y RPM fue de 1 mínimo de 0 máximo de 3 $P = 0.411$. Presencia de Cesáreas asociada con Parto a termino fue mediana 1 mínimo de 0 máximo de 2, para parto pretermino 1 mínimo de 0 máximo de 2, para RPM 1 mínimo 0 máximo de 2. $P = 818$. En otro apartado referente a las semanas de gestación para embarazos a termino la media fue de 38.8 SDG mínimo 37 SDG máximo de 41.2 SDG para embarazos pretermino es de 32.30 SDG mínimo de 21.2 SDG máximo de 36.6 presencia de RPM 38.3SDG mínimo 30.3 SDG máximo de 39.6 SDG. Se realizó



un comparativo se encontró una diferencia significativa entre los grupos de parto a termino y prétermino con una $P < 0.05$. Peso del producto al nacimiento para Parto a termino fue de 3085g mínimo 1400g máximo 4190g parto prétermino 1946g peso mínimo de 375g peso máximo 3590g con RPM 2675g peso mínimo de 760g peso máximo de 3930g. Se encontró diferencia significativa en los grupos de embarazo a termino y pretermino así como en el grupo de pretermino y RPM. $P = < 0.05$., lo anterior se observa en la Tabla 1.

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

Característica	Parto a Término	Parto Prétermino	RPM	Significancia
Edad* (años)	25.16 (14-46)	26.167 (15-40)	24.760 (14-40)	$P = 0.722$
No. de Embarazo	2 (0-8)	3 (1-8)	1 (1-4)	$P = 0.102$
Parto ¹	1 (0-7)	1 (0-4)	1 (0-2)	$P = 0.354$
Aborto ¹	1 (0-3)	1 (0-7)	1 (0-3)	$P = 0.411$
Cesárea ¹	1 (0-2)	1 (0-2)	1 (0-2)	$P = 0.818$
Edad Gestacional al Nacimiento de Producto (semanas)*	38.84 (37-41.2)	32.30 (21.2-36.6)	38.30 (30.30-39.60)	$P = < 0.05^2$

Datos mostrados en valor promedio con límites en paréntesis. ¹Datos mostrados en mediana, con límites en paréntesis. ² Diferencia significativa entre grupos: semanas



de Gestación a Termino y Semanas de gestación Pretermino. .³ Comparación entre grupo de productos de mujeres con RPM versus parto pretermino. Todos los valores comparados con ANOVA Rank Sum Test.

Se valoró la frecuencia de parto pretermino y a termino asociado con presencia de gen para TNF alfa homocigoto 1:1 y heterocigoto 1:2 del total de las pacientes, así como se recopilaron de acuerdo al numero de alelo presente 1 o 2. Para pretermino con TNF alfa homocigoto 1:1 15 pacientes de 17 corresponde a un 88.2% y a termino 60 de 60 pacientes lo cual corresponde a un 90.9% $\chi^2 = 0.63$ $P = 0.42$ relación de momios 0.75 IC rango menor 0.13 rango mayor 4.09 Para los heterocigotos 1:2 asociados con embarazo de pretermino se presentaron en 2 de 17 pacientes correspondiendo en un 11.8% a termino 6 de 66 correspondiente a un 9.1% $\chi^2 = 0.016$ $P = 0.89$ relación de momios en 1.29 con IC rango mínimo 0.28 rango máximo de 5.85. Para el alelo 1 con embarazo pretermino se presentaron 32 de 34 correspondiente a un 94.1% a término 126 de 132 que corresponde a un 95.4% $\chi^2 0.016$ $P = 0.43$ relación de momios de 0.76 IC rango mínimo 0.14 rango máximo 3.95. Para el alelo 2 con embarazo de pretérmino se presentaron 2 de 34 que corresponde a un 5.9% para resolución a término 6 de 126 correspondiente a un 4.5% con una $\chi^2 = 0.031$ $P = 0.85$ relación de momios 1.54 IC rango mínimo 0.6 rango máximo de 5.84. como se observa en la Tabla 2

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Tabla 2.- Frecuencia, análisis y diferencia estadística de TNF*1 y TNF*2, en grupo de casos y testigo.

	Pretérmino (%)	A término (%)	Xi ² (Significancia)	Relación de Momios (I.C. 95 %)
TNF- α homocigoto (1:1)	88.2 (15/17)	90.9 (60/66)	0.63 (0.42)	0.75 (0.13 – 4.09)
Por alelo 1	94.1 (32/34)	95.4 (126/132)	0.59 (0.43)	0.76 (0.14-3.95)
TNF- α heterocigoto (1:2)	11.8 (2/17)	9.1 (6/66)	0.016 (0.89)	1.29 (0.28 – 5.85)
Por alelo 2	5.9 (2/34)	4.5 (6/126)	0.031 (0.85)	1.54 (0.26 – 5.84)

Análisis estadístico realizado mediante prueba Chi cuadrada.

Así mismo se reporto la relación entre la presencia del gen de TNF alfa homocigoto y heterocigoto y su relación con RPM y parto a término del mismo modo se relaciono la presencia del alelo 1 o 2 con RPM y parto a termino. Para TNF alfa homocigoto 1:1 y RPM se encontraron 20 de 22 pacientes con un 91% para parto a termino 60 de 66 pacientes con un 90.6% Xi² 0.63 y P = 0.42 relación de momios 0.75 IC rango mínimo de 0.13 rango máximo 4.09 para el gen heterocigoto 1:2 y la presencia de RPM 2 de 22 pacientes que corresponde a un 9% a Termino 6 de 66 pacientes con un 9.1% Xi² 0.016 P= 0.89 relación de momios

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



1.29 IC rango mínimo de 0.28 rango máximo de 5.85. Con la presencia del alelo 1 por separado y su relación con RPM encontramos que 42 de 44 pacientes lo presentaron lo cual corresponde aun 95.4 % y para parto a término 126 de 132 pacientes con un 95.4% χ^2 0.59 $P=0.43$ Relación de momios 0.76 IR (0.14-3.95). Para el alelo 2 y su asociación con RPM se presentaron 2 de 44 pacientes con un 4.6% y para parto a término 6 de 126 pacientes con un porcentaje de 4.5. χ^2 0.031 $P= 0.85$ y Relación de momios en 1.54 IC (0.26-5.84) Tabla 3

Tabla 3.- Frecuencia, análisis y diferencia estadística de TNF*1 y TNF*2, en grupo de casos y testigo.

	RPM (%)	A término (%)	χ^2 (Significancia)	Relación de Momios (I.C. 95 %)
TNF- α homocigoto (1:1)	91 (20/22)	90.9 (60/66)	0.63 (0.42)	0.75 (0.13 – 4.09)
Por alelo 1	95.4 (42/44)	95.4 (126/132)	0.59 (0.43)	0.76 (0.14-3.95)
TNF- α heterocigoto (1:2)	9.0 (2/22)	9.1 (6/66)	0.016 (0.89)	1.29 (0.28 – 5.85)
Por alelo 2	4.6 (2/44)	4.5 (6/126)	0.031 (0.85)	1.54 (0.26 – 5.84)

Análisis estadístico realizado mediante prueba Chi cuadrada.

Posteriormente también se buscó asociación entre la presencia de los alelos 1 o 2 para TNF y así como la presencia de infección cervicovaginal de G. Vaginalis



obteniendo que para la presencia de alelo 1:2 y parto pretermino no se encontraron dentro de la muestra ninguna paciente no así para homocigoto 1:1 en donde se encontraron un total de 4 pacientes con embarazo de pretermino χ^2 2.96 $P = 0.084$. En la asociación de 1:2 para parto a término encontramos 2 pacientes y 1:1 11 pacientes para un total de 13 con una χ^2 0.0026 $P = 0.95$ Tabla 4

Tabla 4.- Mujeres portadoras de alelos 1 ó 2 de TNF ,en relación a la aparición de parto pretérmino, con cultivo positivo para *G. vaginalis*.

G. Vaginalis	1:2	1:1	Total	χ^2 (Significancia)	Relación de Momios (I.C. 95 %)
Pretérmino (+)	0	4	4	2.96 (0.084)	N.D
Pretérmino (-)	2	11	13	0.0026 (0.95)	N.D.
Total	2	15	17		

Análisis estadístico realizado mediante prueba Chi cuadrada. N.D. No determinado

En relación a al presencia de RPM y su asociación con alelos 1 o 2 de TNF alfa para RPM se obtuvo que para 1:2 no se presento RPM no así para 1:1 en



donde se presentaron 7 pacientes con una χ^2 de 3.27 $P= 0.070$ Para la ausencia de RPM y su asociación con 1:1 encontramos 2 pacientes y 1:1 13 pacientes para un total de 15 pacientes con una χ^2 0.04 . Tabla 5

Tabla 5.-. Mujeres portadoras de alelos 1 ó 2 de TNF ,en relación a la aparición de ruptura prematura de membranas, con cultivo positivo para *G. vaginalis*.

G. Vaginalis	1:2	1:1	Total	χ^2 (Significancia)	Relación de Momios (I.C. 95 %)
RPM (+)	0	7	7	3.27 (0.070)	N.D
RPM (-)	2	13	15	0.04 (0.82)	N..D
Total	2	20	22		

Análisis estadístico realizado mediante prueba Chi cuadrada ND No determinado

Presencia o no de RPM y asociación con TNF alfa para 1:2 y 1:1 con presencia de cultivo positivo para *Candida* spp. Obtuvimos que la presencia de 1:2 con RPM no se presento ninguna paciente, para 1:1 se presentaron 2 pacientes con una χ^2 de 3.09 $P=0.03$. Ausencia de RPM con 1:2 se presentaron 2 pacientes y con alelos 1:1 18 para un total de 20 con una χ^2 0.67 y una $P= 0.41$. Tabla 6.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Tabla 6.- Mujeres portadoras de TNF (1:2) en relación a la aparición de ruptura prematura de membranas, con cultivo positivo para *Candida* spp.

C. <i>Candida</i> spp.	1:2	1:1	Total	χ^2 (Significancia)	Relación de Momios (I.C. 95 %)
RPM (+)	0	2	2	3.09 (0.070)	N.D
RPM(-)	2	18	20	0.67 (0.41)	N.D.
Total	2	20	22		

Análisis estadístico realizado mediante prueba Chi cuadrada. N.D. No determinado

Por último se asocio la presencia de RPM con los alelos específicos para TNF alfa y cultivo positivo para *C. Albicans*. RPM con 1:2 no se encontró ninguna paciente con alelo 1:1 2 pacientes con una χ^2 de 3 P= 0. Para ausencia de RPM y alelo heterocigoto 1:2 2 pacientes para alelo homocigoto 1:1 con 18 pacientes con una χ^2 0.67 P= 0.41

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Tabla 7.- Mujeres portadoras de TNF (1:2) en relación a la aparición de ruptura prematura de membranas, con cultivo positivo para C. albicans.

C. Albicans	1:2	1:1	Total	χ^2 (Significancia)	Relación de Momios (I.C. 95 %)
RPM(+)	0	2	2	3.0 (0.07)	N.D
RPM (-)	2	18	20	0.67 (0.41)	N.D
Total	2	20	22		

Análisis estadístico realizado mediante prueba Chi cuadrada. N.D No determinado

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



VII. DISCUSIÓN.

El parto pretérmino ha permanecido como la patología de mayor impacto sobre los valores de mortalidad infantil, en las últimas cuatro décadas. Los avances realizados al respecto han disminuido el valor de morbilidad, debido a un avance en la ciencia y tecnología aplicada en la atención de neonatos prematuros, en compañía de mayor cobertura en la atención perinatal; más que por disminución de la incidencia del fenómeno.

Entender y explicar la aparición de parto pretérmino, parte del hecho que se desconoce con precisión los mecanismos que en forma coordinada dictan la terminación del embarazo, asumiendo por las evidencias reportadas, que en el fenómeno pretérmino operan los mismos mecanismos que en el fenómeno a término, pero están desfasados en tiempo/momento/espacio. Al respecto se ha documentado la amplia participación que tienen las citocinas TNF- α e IL-1 β , en diversos mecanismos de inicio y mantenimiento del trabajo de parto, y aunque se desconoce si estas moléculas son las encargadas de dar la señal de fin de la gestación, es claro que juegan un papel preponderante en los momentos iniciales de ésta.

Los datos han identificado cambios en la concentración de TNF- α el inicio y durante el trabajo, a partir de muestras obtenidas de líquido amniótico colectadas



a lo largo de embarazos que culminaron en forma normal a término, y de embarazos que tuvieron una resolución pretérmino.^{40,41} Asimismo, empleando elaborados modelos animales de primates (*Macaca mulatta*, *Macaca nemestrina*), se han monitoreado los compartimentos amniótico, circulatorio fetal, circulatorio materno y circulatorio placentario,(22-23) observando tanto en los modelos animales como en las muestras obtenidas de líquido amniótico, provenientes de mujeres que presentaron parto a término y pretérmino, un aumento en la concentración de las citocinas IL-1 β , IL-6 y TNF- α tanto en líquido amniótico, como en el compartimento periférico materno.

Se ha documentado que IL-1 β , IL-6 y TNF- α son producidas por células amnióticas, coriónicas y deciduales, mediante la identificación de mRNA provenientes de tejido amniótico y coriónico, así como de la decidua en muestras obtenidas a lo largo de la gestación.(24) Por otro lado las citocinas IL-1 β , IL 6 y TNF- α , son capaces de mediar y aumentar la capacidad uterotónica, ya que inducen la síntesis de prostaglandinas: PGE₂ y PGF_{2 α} al actuar sobre células amnióticas, coriónicas, deciduales y miometriales, al cultivarlas *in vitro*.(25) a través de la promoción de síntesis de la versión inducible de la ciclooxigenasa-2 (COX-2), que actuando sobre el ácido araquidónico genera la producción de prostaglandinas PGE₂ y PGF_{2 α} .(26)

Por otro lado, la capacidad final de promoción uterotónica por parte de TNF- α , puede influir de manera prominente, pues se ha observado que promueven la



liberación de endotelina-1 de manera dosis respuesta, al estimular amniocitos en cultivo; sumado al efecto excéntrico que presenta IL-1 β en el útero, donde se ha documentado su capacidad directa de promover contracciones uterinas amplias y sostenidas.(27)

El presente estudio realizó la búsqueda dirigida del polimorfismo TNF*2, relacionado con una mayor capacidad de síntesis de TNF- α en mujeres que presentaron parto a término, pretérmino y RPM. Los resultados obtenidos mostraron la ausencia de relación en cuanto a portar el alelo TNF*2 y la aparición de PPT y RPM al analizar dicho alelo por arrastre o por frecuencia alélica. El análisis por arrastre asume que la presencia en forma homocigota o heterocigota de TNF*2, tendrá un mayor efecto en la capacidad de síntesis de la citocina en portadores homocigotos de TNF*1; sin embargo, en nuestro estudio no fue posible identificar una sola mujer que fuese homocigota para TNF*2, observando valores de frecuencia al respecto de dicho alelo muy parecidos entre las mujeres con parto a término como pretérmino. Sobre este aspecto se puede argumentar características étnicas, ya que una de las dos descripción previas donde se analizó TNF*2 en relación a PPT, la cual mostró diferencia estadística significativa entre las mujeres que lo presentaron y las que no, fue realizado en una cohorte de mujeres Africanas; reportando dicho estudio valores 4 veces mayores con respecto a lo reportado en el presente.(28) En el segundo estudio realizado al respecto, no se encontró diferencia estadística significativa, entre las mujeres que presentaron la patología y las que no, señalando que este fue realizado en una



población de mujeres Anglosajonas.(29) Por otro lado una mayor frecuencia de TNF*2 en mujeres Afroamericanas fue descrita por Roberts,(30) quién identificó una mayor frecuencia de TNF*2 estadísticamente significativa, entre mujeres que presentaron RPM; pero no en mujeres Anglosajonas.

Por otro lado el vínculo entre las citocinas proinflamatorias y la aparición de parto pretérmino está claro, pues la infección intraamniótica documentada con cultivo positivo se relaciona con la aparición del fenómeno. La administración intrauterina de las citocinas IL-1 β , IL-6 y TNF- α , de manera simple o haciendo combinación de ellas, induce trabajo de parto y nacimiento pretérmino al utilizar hembras preñadas de conejos, cobayos, ratones, como modelos animales de experimentación. En embarazos menores a 37 semanas que muestran trabajo de parto pretérmino, en donde se identifica por cultivo microbiológico la presencia de infección intrauterina, se encuentra una asociación directa con nacimientos pretérmino, ya que éste se presentó en el 95% de más 1 850 casos estudiados.(31) Asimismo, diversos estudios que analizan el líquido amniótico proveniente de mujeres que presentaron corioamnionitis, identifican una mayor concentración de las citocinas IL-1 β , TNF- α e IL-6, en comparación con muestras obtenidas de mujeres con partos a término. Células en cultivos provenientes de la membrana fetal (amnios y corion), así como deciduales, son capaces de sintetizar las citocinas IL-1 β , TNF- α e IL-6, bajo el estímulo de componentes bacterianos como el LPS. Por otro lado, el cocultivo de células amnióticas con diferentes bacterias, como *Escherichia coli*, *Bacteroides fragilis*, *Mycoplasma hominis*,



Staphylococcus aureus, han mostrado su capacidad para inducir la síntesis de citocinas IL-8, IL-6 y PGE2 en células amnióticas.(32) Sin embargo, el vínculo entre infección y nacimiento prematuro no está totalmente claro, pues entre el 2.1 y 21.6% se aísla algún microorganismo proveniente de líquido amniótico, es decir, hasta en una quinta parte de las mujeres en las que se desencadena el trabajo de parto antes de 37 semanas, es posible identificar invasión microbiológica intraamniótica, pero no todas las mujeres con infección presentan la patología.(20-21).

La Ruptura prematura de membranas y el parto prematuro son dos entidades las cuales continúan siendo un enigma para los investigadores perinatales, sin embargo en la actualidad existen numerosos trabajos que están encaminados a descubrir una etiología real, solo en el INPer estas dos entidades son las implicadas en las mayores tasas de Morbimortalidad fetal es por esto que es de suma importancia tener nuevas opciones de prevención y terapéuticas adecuadas a cada caso en particular.

Existen numerosos estudios en la literatura mundial referentes a la presencia de citocinas proinflamatorias como lo son TNF alfa , IL-6, IL-8 que se sabe bien son participes en la cascada de fenómenos que condicionan RPM y parto prematuro, Esta asociación buscamos fundamentarla no solo con la presencia aislada del alelo para TNF alfa, sino su relación con la presencia de algún microorganismo patógeno y establecer si existe relación directa con estos fenómenos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Nosotros pensamos que si estas citocinas proinflamatorias están presentes en cualquier paciente y sabiendo que puede existir una respuesta aumentada del huésped ante la presencia de un agente patógeno y asociación con el polimorfismo podemos inferir sobre algo importantísimo en la génesis de RPM o parto pretermino

El siguiente trabajo es el primero desarrollado a nivel mundial hasta nuestro conocimiento acerca de polimorfismo TNF alfa , la presencia de RPM y/o parto pretermino y su asociación con un microorganismo patógeno del tracto cervicovaginal, tratando de identificar factores de riesgo asociados. Los resultados en estos momentos no son concluyentes pero el trabajo tiene como propósito sentar las bases para futuros estudios en la obtención de un marcador genético, asociado con patógenos conocidos involucrados con el desarrollo de las PPT Y RPM, Esta búsqueda puede ser de importancia trascendental en el seguimiento y control prenatal de las pacientes embarazadas con antecedente de ruptura o parto pretermino o sin él .

Ya que de existir algún microorganismo patógeno a nivel cervicovaginal, en una paciente en la cual previamente se sabe que posee el alelo 2 de TNF alfa nos servirá a nosotros como especialistas tener una estrecha vigilancia de estas pacientes con el fin de abatir la incidencia de estos fenómenos.

Una proyección de esta idea podría ser que dentro de los exámenes básicos a una paciente embarazada que ingresa al Instituto se solicitara la determinación en sangre de polimorfismo de TNF alfa, y complementarlo con cultivos



cervicovaginales en cada consulta obstetrica se podria tener el cuenta el riesgo que tiene esta paciente de presentar RPM o PPT.

Lo anterior como investigadores de esta Institución que está siempre a la vanguardia y brindar desde el punto de vista perinatal una pauta a la sociedad medica para tener un impacto y con esto disminuir un problema de salud pública como lo es la prematurez por RPM y parto pretérmino 2 de las principales causas

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



CONCLUSIONES.

1. No existe relación entre la presencia de los alelos de TNF alfa entre las mujeres con RPM versus parto a término.
2. No existe relación entre la presencia de los alelos de TNF alfa entre las mujeres con parto pretermino y parto a término .
3. No existe relación entre la presencia de los alelos de TNF alfa entre las mujeres con parto pretérmino y parto a término, asociando la presencia de G. Vaginallis, Candida albicans, Candida spp , identificados en tracto genital inferior.
4. No existe relación entre la presencia de los alelos de TNF alfa entre las mujeres con RPM y parto a término, asociando la presencia de G. Vaginallis, Candida albicans, Candida spp , identificados en tracto genital inferior

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



VIII. BIBLIOGRAFÍA.

1. Joseph M. Miller. The Microbiology of Premature Rupture of the Membranes. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. Vol 29 No. 4 December 1986.
2. Marco A. Mejía et col. Ruptura Prematura de membranas. *Revista de Perinatología* Vol. 11 No. Enero-marzo 1996.
3. Jean-Paul Mira. Association of TNF alfa a TNF alfa Promoter Polymorphism With Septic Sock Susceptibility and Mortallity. *JAMA* August 11. 1999 Vol 282 No. 6
4. Premature Rupture of Membranes. *The American College of Obstetricians and Gynecologists. Practice Bulletin N°1, 1998.*
5. French J, Mc Gregor J., The Pathobiology of Premature Rupture of Membranes. *Seminars in Perinatology*; 1996;20:344-68.
6. Sampson J, et al. Fetal origin of amniotic fluid polimorphonuclear leukocytes. *Am J Obstet Gynecol*. 1997; 176:77-81.
7. Polzin WJ, et al. A pilot study identifying type V collagenolytic activity in human amniotic fluid. *Am J Perinatol*. 1997;14:1036.
8. Ekwo e, et al. Risk for preterm premature rupture of membranes. *Int J Epidemiol*. 1993;22:495-503.
9. Naeye RL et al. Factors that predispose to preterm rupture of the fetal membranes. *Obstet Gynecol*. 1982; 60:63.



10. Read J et al. The vaginal infection and prematurity. Am J Obstet Gynecol. 1993;168:514-9.
11. Beydoun S et al. Preterm rupture of the membranes before 28 weeks. Conservative management. Obstet Gynecol. 1986; 155:471-9.
12. Cox S et al. Intentional delivery versus expectant management with preterm rupture membranes at 30-34 weeks gestation. Obstet Gynecol. 1995;86:875-79.
13. Mercer B et al. Antibiotic Therapy for reduction of infant morbidity after preterm premature rupture of membranes. JAMA. 1997;278:989-95.
14. Martin et al. Premature rupture of membranes. Clin Invest Gin Obstet. 1995;22:10-8.
15. National Institute of Health Consensus Development Conference Statement. Effect of corticosteroids for fetal maturation on perinatal outcome. Am J Obstet Gynecol. 1994;173:243-52.
16. Iimesis H et al. Glucocorticoid use in patients with preterm rupture of membranes. Seminars in perinatol. 1996;20:343-50.
17. Eroiz H et al. Manejo conservador de la ruptura prematura de membranas en embarazos de 28 a 34 semanas. Ginecol Obstet Mex. 1997;65:43.
18. Ibarra C et al. Proteína C reactiva como detector temprano de corioamniocitis en RPM. Ginec Obstet Mex. 1998; 57:203-8.



19. ACOG. Preterm rupture of membranes. Technical Bulletin. 1988;115.
20. Opsjon, S., Wathen, N., Tingulstad, S., Wiedswang, G. (1993) Tumor necrosis factor, interleukin-1, and interleukin-6 in normal human pregnancy. Am J Obstet Gynecol 169(2):397-404.
21. Hunt, J., Lin-Chen, H., Miller, L. (1996) Tumoral necrosis factor: Pivotal components of pregnancy. Biol Rep 54:554-62.
22. Gravett, M., Stevens, S., Novy, M. (1994) A nonhuman primate model for chorioamnionitis and preterm labor. Sem Reprod Endoc 12(4):246-62.
23. Baggia, S., Gravett, M., Stevens, S., Witkin, S., Haluska, J. (1996) Interleukyn 1- β intra-amniotic infusion induces tumor necrosis factor, prostaglandin production and preterm contractions in pregnant Rhesus monkeys. J Soc Gynecol Invest 3(3):121-26.
24. Dudley, D., Collmer, D., Mitchell, M., Trautman, M. (1996) Inflammatory Cytokyne mRNA in human gestacional tissue: implications of term and preterm labor. J Soc Gynecol Invest 3(6):328-35.
25. Reisenberger, K., Egarter, C., Knofler, M., Schiebel, I., Gregor, H., Hirschl, A.M., Heinze, G., Husslein, P. (1998) Cytokine and prostaglandin production by amnion cells in response to the addition of different bacteria. Am J Obstet Gynecol 178:50-53.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN
NO SALE
BIBLIOTECA



26. McDonald, H. The Role of Vaginal Flora in Normal Pregnancy and in Preterm Labor. (1997) *The Preterm Labor Syndrome*. In Elder, M., Romero, R., Lamont, R. (eds) *Preterm Labor*. Churchill Livingstone Inc. New York, USA.
27. Sadowsky, D., Novy, M., Witkin, S., Gravett, M. (2003) Dexamethasone or interleukin-10 blocks interleukin-1 β -induced uterine contractions in pregnant rhesus monkeys. *Am. J. Obstet. Gynecol* 188:252-263.
28. Aidoo, M., McElroy, P., Kolczak, M., Terlouw, D., ter Kuile, F., Nahlen, B., Lal, A., Udhayakumar, V. (2001) Tumor necrosis factor-alpha promoter variant 2 (TNF2) is associated with pre-term delivery, infant mortality, and malaria morbidity in western Kenya: Asembo Bay Cohort Project IX. *Genet Epidemiol* 21(3):201-11.
29. Dizon-Townson, D., Major, H., Varner, M., Ward, K. (1997) A promoter mutation that increases transcription of the tumor necrosis factor-alpha gene is not associated with preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 177(4):810-3.
30. Roberts, A., Monzon-Bordonaba, F., Van Deerlin, P., Holder, J., Macones, G., Morgan, M., Strauss, J., Parry, S. (1999) Association of polymorphism within the promoter of the tumor necrosis factor alpha gene with increased risk of preterm premature rupture of the fetal membranes. *Am. J Obstet Gynecol* 180:1297-1302.
31. Laham, N., Brennecke, S., Bendtzen, K., Rice, G. (1994) Tumor necrosis factor during human pregnancy and labour: maternal



plasma and amniotic fluid concentrations and release from
intrauterine tissue. Eur J Endo 131:607-14.

32. Kelly, R. (1996) Inflammatory mediators and parturition. J Reprod
Fer 8:89-96

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN