

11217



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA
DIRECCION DE INVESTIGACION

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

EVALUACION DE LA FIBRONECTINA ONCOFETAL COMO MARCADOR CLINICO PRONOSTICO DEL PARTO PRETERMINO

TESIS

PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN:
GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA

PRESENTAN:

DR. ALEJANDRO ROSAS BALAN
DR. JOSE ROBERTO AHUED AHUED

TUTORES:

DR. FELIPE VADILLO ORTEGA
DR. JORGE BELTRAN MONTOYA



INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

MEXICO, D. F.



2004

DIRECCION DE ENSEÑANZA



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 mis Padres por brindarme apoyo incondicional, y darme las herramientas necesarias para superar cualquier adversidad.

A Jelyu por estar cuando la necesito.

INDICE

	Página
Índice	1
Introducción	2
El Valor de predecir el riesgo	5
Factores de Riesgo	6
Marcadores Biológicos para predecir Parto Pretérmino	7
Examen de fibronectina Oncofetal	9
Planteamiento del Problema	11
Justificación	12
Objetivos	13
Diseño del Estudio	14
Metodología	15
Recolección de Datos	17
Plan de Análisis	18
Aspectos Éticos	19
Hoja de Consentimiento Informado	20
Organización	23
Resultados	24
Discusión	27
Conclusiones	29
Bibliografía	30

I. MARCO TEORICO.

INTRODUCCION

El parto pretérmino, definido como el nacimiento antes de las 37 semanas de gestación es un problema de salud con vigencia a escala mundial y México no escapa a esta situación. (1)

Las condiciones que lo hacen relevante, son la frecuencia con la que se presenta y las complicaciones graves asociadas que afectan tanto a la madre como al producto. Aunque no contamos con estadísticas nacionales precisas, el parto pretérmino complica al menos 12% de todos los embarazos en nuestro país y sus consecuencias, que se extienden más allá del momento del nacimiento, lo hacen el servicio más caro en ámbito de atención a la salud. (2) Todo esto ha resaltado la necesidad de establecer medidas preventivas para evitar su desarrollo y ha conducido a la evaluación de diversos marcadores que permiten evaluar el riesgo para desarrollar esta complicación durante el embarazo. (3) Desgraciadamente ningún marcador ha demostrado tener utilidad general y la prevalencia mundial de parto pretérmino permanece sin modificaciones desde hace 40 años. (4,5) La única explicación a este hecho, es que se ignora el mecanismo fisiopatogénico que opera en el parto pretérmino y por lo tanto carecemos de la capacidad de intervenir en el desarrollo de la enfermedad.

El estudio de la fisiopatogenia del parto pretérmino es una de las líneas de investigación que se han desarrollado en el Instituto Nacional de Perinatología y ha permitido iniciar el entendimiento de los mecanismos moleculares y celulares que conducen al desarrollo de la ruptura prematura de las membranas corioamnióticas (RPM), que es la causa identificada más común de parto pretérmino y que explica al menos la mitad de los casos. La RPM es una entidad nosológica que se caracteriza por la ruptura espontánea de las membranas que rodean al feto, con salida de líquido amniótico transvaginal y que es seguida por el desarrollo de trabajo de parto. El origen de la RPM tampoco se conoce.

Usualmente la edad gestacional se establece de acuerdo al último periodo menstrual. La evidencia adicional mediante el ultrasonido temprano, puede predecir el momento del nacimiento. Estos métodos permiten estimar el momento del confinamiento con un buen grado de efectividad. El momento exacto del comienzo del trabajo de parto no se conoce aun. Solo el 6% de los nacimientos ocurren en la fecha establecida. Desde ambos puntos de vista, tanto médico como psicológico, el establecimiento del trabajo de parto como el momento del nacimiento es deseable, especialmente en aquellas mujeres que han visto pasar su fecha probable de parto. Hasta ahora la puntuación de Bishop representa la única manera de estimar el probable momento de nacimiento. (10)

El parto pretérmino es directamente responsable del 80 a 90% de todas las muertes neonatales, excluyendo aquellas que se deben a alteraciones congénitas letales.

En un estudio multicéntrico de 1993 con 33000 embarazos, Cooper reporto 83% de mortalidad neonatal ocurridas en nacimientos menores a las 37 semanas de gestación, y 66% de todas estas perdidas ocurrieron en nacimientos menores de 29 semanas de gestación.

Los estados Unidos certifican de acuerdo a datos publicados en este país, que el parto pretérmino ha ido en aumento en los últimos 30 años, a pesar del uso de agentes tocolíticos. En los años 80 cerca del 9% de los nacimientos ocurrían al menos de las 37 semanas. Para 1990 aproximadamente el 10% de los nacimientos eran pretérminos, y para finales de los noventas aumento al 11%.

Generalmente, la eliminación de la enfermedad o la condición médica requiere la identificación de las pacientes de riesgo, vigilancia cuidadosa, diagnóstico y tratamiento temprano. Las décadas pasadas, los obstetras han intentado aplicar estos principios al problema del parto pretérmino. Desafortunadamente las metas para identificar las pacientes de riesgo y realizar los diagnósticos tempranos solo han sido parcialmente alcanzadas.

Una variedad de sistemas de puntuación clínica se han puesto en práctica para identificar a aquellas pacientes que pueden terminar en el desarrollo de parto pretérmino. El sistema de puntuación fue introducido por Creasy en 1980. Estos investigadores estudiaron aproximadamente los efectos de 30 factores de riesgo que se asignaron en 4 diferentes categorías, incluyendo condiciones sociales, historia obstétrica previa, hábitos personales, y problemas en el embarazo actual. La recolección de los datos se realizó desde la primera visita y repetida en el término del segundo trimestre. Pacientes con calificaciones de 10 puntos o más se consideraron como de alto riesgo para parto pretérmino.

Puntuaciones similares han sido utilizadas por otros investigadores, y todos han mostrado una sensibilidad del 40 a 60% para identificar las mujeres que terminarán en parto pretérmino, los valores predictivos positivos han sido de 15 a 30%. Con estos sistemas de puntuación al menos un tercio de las pacientes fueron clasificadas como de alto riesgo. De manera global estos sistemas logran identificar a las pacientes con riesgo elevado, pero la mitad de los partos pretérminos suceden en pacientes que no tienen factores de riesgo aparentes.

Los médicos hemos creído por largo tiempo que la detección de actividad uterina y los cambios precoces en el cérvix son patognomónicos del parto pretérmino. La dilatación cervical mayor a 1 centímetro, comúnmente es identificada como diagnóstico de parto pretérmino. Aunque la dilatación mayor de 1 cm. cerca de las 34 semanas es asociada a un aumento en el riesgo de parto pretérmino, más del 25% de las pacientes múltiples tendrán dilatación a las 32 semanas. (11)

Distinguir el verdadero trabajo de parto del falso es importante, particularmente cuando el embarazo esta lejano al término. Esta distinción es critica por que como

sabemos el nacimiento pretérmino sigue siendo la principal causa de morbilidad y mortalidad en los neonatos. Clínicamente, tanto como el 50% de las mujeres que tienen trabajo de parto eventualmente desarrollarán parto pretérmino. La diferenciación de estas dos entidades es difícil, ya que la única diferencia absoluta es que en el trabajo de parto verdadero las contracciones llevarán a una dilatación y borramiento progresivo e irreversible y posteriormente el nacimiento. Algunos reportes han descrito el uso de sedantes como morfina, líquidos parenterales, periodos de descanso, o movimientos fetales respiratorios por ultrasonido para distinguir el trabajo de parto falso del verdadero con pequeño a moderado éxito. (12)

El parto pretérmino se define como contracciones regulares asociadas con cambios cervicales antes de las 37 semanas de gestación. El parto pretérmino espontáneo incluye el trabajo de parto pretérmino, la ruptura prematura de membranas y la incompetencia cervical; este no incluye el nacimiento de un bebé pretérmino por indicación materna o fetal. (14) El parto pretérmino contabilizó para el 11.8% de los nacimientos de 1999 y esta aumento a comparación del 9.4% en 1981. (15)

Los eventos patofisiológicos que desatan el parto pretérmino son desconocidos, pero incluye hemorragia decidual (desprendimiento) factores mecánicos (sobredistensión uterina o incompetencia cervical) y cambios hormonales (mediados tal vez por stress fetal o materno). (16) Además, muchas infecciones bacterianas han sido asociadas con trabajo de parto pretérmino. Organismos comúnmente identificados son *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*, *Peptostreptococcus*, y especies de *Bacteroides*. Debido a que estas bacterias son de baja virulencia, es incierto como desarrollan trabajo de parto pretérmino, o si se asocian a una respuesta inflamatoria aguda u otra etiología. (17,18)

EL VALOR DE PREDECIR EL RIESGO

La habilidad de predecir cuando una mujer tendrá un parto pretérmino tendrá valor solo si hay una intervención disponible que mejorara el pronóstico de ese bebé. La oportunidad de administrar corticosteroides en una intervención importante y recomendada por los institutos nacionales de salud, ya que disminuye la morbi-mortalidad neonatal. Además, los agentes tocolíticos pueden prolongar la gestación mas allá de las 48 horas en algunas mujeres, durante las cuales los corticosteroides pueden administrarse. (19) Ya que la administración de agentes tocolíticos y la terapia esteroidea tienen efectos no deseables en el feto y madre, estos deben administrarse solamente a aquellas mujeres con trabajo de parto pretérmino real y alto riesgo de nacimiento pretérmino. Finalmente, en hospitales sin recursos, el identificar a estas pacientes beneficiara tanto a médicos como a la paciente, para poder realizar su transferencia a hospitales con recursos neonatales adecuados. De manera inversa identificar a las mujeres con poco riesgo para parto pretérmino advertirá acerca de intervenciones innecesarias. (13)

FACTORES DE RIESGO

Los factores de riesgo para parto pretérmino incluyen características demográficas como raza áfrico americana (RR 3.3), edad menor de 17 años y mayor de 35 años (RR 1.47 -1.95), estrato socioeconómico bajo (RR 1.83 -2.65) y bajo peso materno (RM 2.72).⁽²⁰⁾ La historia materna de parto pretérmino, particularmente en el segundo trimestre tiene una fuerte asociación con el riesgo de parto pretérmino, esta principalmente contribuye cuando existe parto pretérmino previo con o sin ruptura prematura de membranas y aumenta el riesgo relativo 6 a 8 veces.⁽²¹⁾ El riesgo también aumenta si hubo sangrado transvaginal en más de un trimestre.⁽²²⁾ Existe controversia acerca de la actividad física realizada. El tabaquismo aumenta el parto pretérmino así como el bajo peso al nacimiento y alguna evidencia sugiere que aumenta el riesgo de aborto.⁽¹³⁾

El problema obstétrico del parto pretérmino podría resolverse si se contara con marcadores clínicos (actividad uterina, dilatación cervical) o marcadores bioquímicos objetivos se identificaran. Candidatos previos como estradiol en plasma, progesterona, proteína C reactiva no han tenido la utilidad esperada.⁽²³⁾

MARCADORES BIOLÓGICOS PARA PREDECIR EL PARTO PRETERMINO

Monitorización de la Actividad uterina en casa

La tocodinamometría ha sido utilizada largamente en la evaluación hospitalaria de la actividad uterina. La monitorización de la actividad uterina domiciliaria ha sido propuesta como un método para predecir el parto pretérmino en mujeres de alto riesgo. Esta consiste en la combinación de grabaciones telemétricas de las contracciones uterinas con el uso de un tocodinamómetro y llamadas telefónicas diarias para brindar apoyo y advertencias acerca de la actividad uterina. La utilidad de la monitorización uterina domiciliaria como método de detección en mujeres con riesgo de parto pretérmino depende de la habilidad para detectar las pacientes con riesgo elevado y la efectividad de una medida para evitarlo. Existen varios estudios para probar su efectividad, estos estudios varían en cuanto a los criterios de inclusión de las pacientes y los pronósticos. Esto hace difícil la comparación entre ellos, muchos de ellos tienen limitaciones, como su fuente de origen, tamaño de la muestra, número de paciente. Los resultados van desde pacientes que no mejoran el pronóstico a algunos que mejoran el pronóstico entre aquellas monitorizadas y no monitorizadas. El estudio más grande consta de 2422 pacientes mujeres en riesgo y no hubo diferencias. (13)

Estriol en Saliva

La activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal precede algunos partos pretérminos espontáneos. La producción adrenal de dehidroepiandrosterona resulta en un aumento de la síntesis de estrógenos. Estudios observacionales han mostrado que los niveles séricos de estradiol y salivales de estriol incrementan antes del establecimiento del parto a término como pretérmino. Estos hallazgos propulsaron a diseñar un examen para predecir el parto pretérmino mediante la cuantificación del estriol salival; sin embargo los niveles de estriol materno, muestran variaciones a lo largo del día, con un pico por la noche. También, los niveles de estriol pueden suprimirse por la administración de betametasona que como sabemos es el esteroide más utilizado para promover la madurez pulmonar fetal. (24)

Existen 2 estudios prospectivos que evalúan si los niveles de estriol en saliva pueden predecir el parto pretérmino, ellos mostraron que el estriol salival es más efectivo que la medición tradicional de los factores de riesgo, sin embargo los resultados del segundo estudio mostraron pobre sensibilidad del 71% y una especificidad del 77% y un porcentaje de falsos positivos del 23%, utilizando las 37 semanas para la medición pronóstico. Como los resultados acarrearán una gran cantidad de falsos positivos, su uso podría aumentar los costos del cuidado prenatal de mujeres de bajo riesgo. Además de que la teoría hormonal en caso de algunos partos pretérmino no está bien establecida. (13)

Vaginosis Bacteriana

La Vaginosis Bacteriana es una alteración común de la flora vaginal y ha sido encontrada en un 10 a 25% de pacientes en clínicas ginecológicas y obstétricas generales, y en cerca del 64% de pacientes en clínicas de enfermedades de transmisión sexual. 50% de las pacientes que tienen vaginosis bacteriana son asintomáticas. La vaginosis bacteriana ha sido diagnosticada con mayor frecuencia en mujeres afro americanas (22%) que en blancas (8%). La presencia de vaginosis bacteriana ha sido asociada con parto pretérmino independientemente de otros factores conocidos.

Los estudios para el tamizaje y tratamiento de vaginosis bacteriana en pacientes embarazadas, para reducir la incidencia de parto pretérmino se han realizado en poblaciones mixtas con varios resultados. Algunos de estos estudios encontraron que la detección y el tratamiento de las vaginosis bacterianas redujeron el riesgo de parto pretérmino y otros no confirmaron estos hallazgos.

Un metaanálisis reciente de 1504 mujeres en 5 estudios, sin diferenciar entre mujeres con factores y sin factores de riesgo para parto pretérmino. Los tratamientos utilizados en estos estudios incluían amoxicilina, clindamicina y metronidazol. Aunque los investigadores mostraron que la terapia era efectiva para erradicar la vaginosis bacteriana, la diferencia entre el desarrollo de parto pretérmino no fue estadísticamente significativa entre los grupos. Sin embargo al establecer un subgrupo con mujeres con parto pretérmino previo la diferencia fue significativa con una razón de momios del .37 (95% de IC, 0.23 -0.60). Este metaanálisis no incluye los estudios doble ciego mas recientes. En uno de ellos de 1953 pacientes no se encontró diferencia entre el grupo placebo y el tratado y los subgrupos tampoco mostraron diferencia. Aunque algunos estudios han tratado de asociar la vaginosis bacteriana con el desarrollo de parto pretérmino, aquellos diseñados para tratar la vaginosis han fallado en disminuir la incidencia de parto pretérmino. (13,25)

Ultrasonografía Cervical

La ultrasonografía endovaginal del cérvix ha mostrado ser una manera real y reproducible de medir la longitud cervical. Un estudio ciego prospectivo mostró la asociación entre longitud cervical y parto pretérmino. Este estudio estableció una distribución normal de la longitud cervical posterior a las 22 semanas de gestación. No ha sido posible establecer con exactitud las mediciones cervicales para la detección del parto pretérmino. (13,26)

Examen de Fibronectina Fetal

Las fibronectinas son un grupo de glicoproteínas multifuncionales. Estas proteínas han sido identificadas en plasma y en la matriz extracelular de una variedad de tejidos normales y cancerosos. (10)

Es una glicoproteína con un peso molecular de 440000 daltons. Existen 2 formas mayores de fibronectina, la fibronectina soluble que se encuentra en plasma y en otros líquidos corporales como el líquido amniótico, juega un rol importante en la coagulación y cicatrización, y la fibronectina tisular que se encuentra en la membrana basal y en el tejido conectivo entre las células endoteliales. Con el uso de anticuerpos específicos ha sido posible identificar estructuras bioquímicas menores entre varios isotipos. La fibronectina oncofetal es reconocida por el anticuerpo monoclonal FCD -6. Este épitopo resulta de la adición de una molécula de alfa-N-acetilgalactosamina a un residuo de treonina en un segmento hexapéptido localizado en la zona HICS (segmento conector). (27)

La fibronectina oncofetal se ha encontrado en ciertas células malignas y en tejidos fetales, incluida la placenta y líquido amniótico. Esta proteína está presente en tejido fetal a través del embarazo, y su localización en la matriz extracelular del trofoblasto extraveloso y en la decidua basal. Como en las membranas fetales, la fibronectina oncofetal es distribuida más difusamente, pero la mayoría se encuentra concentrada en la interfase entre la decidua y el corion. (10)

La fibronectina oncofetal ha sido detectada en las secreciones vaginales y cervicales de pacientes con contracciones uterinas prematuras pero membranas íntegras. Se cree que el aumento en las contracciones uterinas puede llevar a la separación del corion y el espacio decidual del útero, permitiendo la liberación de la fibronectina oncofetal a las secreciones vaginales y cervicales. (11)

La fibronectina oncofetal parece jugar un rol entre la unión de las membranas fetales y la superficie intrauterina. Esta puede encontrarse en ciertas condiciones como lo noto Lockwood en la secreción cervical y vaginal antes de las 22 semanas y después de las 37 semanas de gestación. Sin embargo entre las 24 y 37 semanas típicamente no se encuentra en el cérvix ni en el fondo de saco vaginal. Su presencia en este tiempo es asociado con incremento en el riesgo de parto pretérmino (10) y su decremento si la presencia de esta proteína es negativa.

El uso de la fibronectina oncofetal como herramienta clínica para la identificación de las mujeres en riesgo de parto pretérmino ha facilitado el desarrollo y la disponibilidad de una prueba comercialmente disponible. Actualmente existen 2 modalidades de la prueba aprobadas por la Federal Drug Administration (FDA). La primera de estas modalidades, el ELISA se aprobó en 1995. Para esta prueba, la muestra tomada requiere transporte al laboratorio central. Con esta opción aproximadamente los resultados están disponibles entre 24 y 48 horas posterior a la recolección de la muestra.

La segunda es automatizada y es una prueba semi cuantitativa que se aprobó en 1998 por la FDA. Tiene la ventaja sobre el ELISA, que la muestra puede utilizarse y permanecer en el hospital donde se recolecte, y los resultados pueden obtenerse entre 1 y 2 horas. Con cualquiera de las dos modalidades, un nivel igual o mayor de 50 ng/ml será considerado como positivo y uno menor será negativo. (28)

Debe tenerse sumo cuidado en la recolección de la muestra, éstas se recolectan durante la inspección inicial con el espéculo vaginal. Una muestra de moco cervicovaginal se recolecta del ectocérvix o del fondo de saco posterior, usando un hisopo de poliéster, y de ahí al medio de transporte hasta el análisis. Para disminuir los falsos positivos esta muestra debe tomarse antes de la exploración digital. (29,30) Otras variables confusoras incluyen sangrado transvaginal, ruptura de membranas, infección vaginal y el uso de lubricantes o desinfectantes vaginales. La presencia de sangre puede dar positiva una muestra, esto debido a la presencia de fibronectina en plasma. El líquido amniótico contiene grandes cantidades de fibronectina. (32)

USO DE LA FIBRONECTINA EN PACIENTES ASINTOMATICAS

A la fecha, más de 20 estudios han evaluado la utilidad de esta prueba en pacientes asintomáticas, la idea es proveer con el resultado, una advertencia de aquellas pacientes que están en gran riesgo de terminar en parto pretérmino. (33,34) Los diversos estudios muestran valores de sensibilidad del 70%, especificidad del 80%, valor predictivo positivo 30% y valor predictivo negativo de 95%. (31)

USO DE LA FIBRONECTINA EN PACIENTES SINTOMATICAS

A la fecha hay reportados más de 30 estudios que evalúan su uso en pacientes sintomáticas. El valor potencial de esta prueba será discriminar las pacientes que tienen verdaderamente trabajo de parto pretérmino de aquellas que no lo tienen. Los valores se acercan en cuanto a su sensibilidad del 82% y especificidad cercana al 83%, valor predictivo positivo de 11% y valor predictivo negativo de 94%. (23)

En contraste con las pruebas de tamizaje, en donde una prueba positiva es usada para manejo, en el caso de la fibronectina fetal su uso esta destinado por su alto valor predictivo negativo. Mujeres con un resultado negativo tienen una baja incidencia de parto pretérmino a una semana de la prueba, 1 a 4%, y de nacimiento pretérmino, 8 a 24%, un examen negativo proporcionará información suficiente para permitir al clínico el uso de agentes tocolíticos o esteroides en mujeres con bajo riesgo de parto pretérmino. Basándose en estas características, se podrían adoptar diferentes conductas con el resultado negativo de la prueba, como la disminución de estancia hospitalaria, disminución de ingreso, y costos relacionados a la admisión de estas pacientes. (35)

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

A lo largo de los años se han propuesto diferentes marcadores bioquímicos o biofísicos que permiten distinguir a las mujeres embarazadas con mayor riesgo de desarrollar parto pretérmino.

Dentro de estos marcadores ha destacado la propuesta de utilizar la determinación de fibronectina oncofetal (FnOnc) en secreciones vaginales como un indicador de riesgo relativo para desarrollar esa complicación de embarazo y aunque su uso no se ha generalizado, ya se cuenta con varios reportes en los que se demuestra su posible utilidad clínica. La fnOnc es molécula de la matriz extracelular con propiedades adhesivas que es sintetizada por células fetales y cuya principal función es medir el anclaje de diferentes estirpes celulares de la placenta y de las membranas fetales, a su entorno de tejido conectivo en la interfase coriódécidual. Bajo condiciones de embarazo normal la fnOnc es detectable en el exudado cervicovaginal antes de la semana 20 de embarazo y permanece negativa hasta algunas horas antes del desarrollo del trabajo de parto.

Se ha propuesto que los fenómenos que se asocian al trabajo de parto normal, pretérmino y/o a la ruptura prematura de membranas, provocan cambios en el microambiente intrauterino que modifican la arquitectura local y que se manifiestan por pérdida de las relaciones de esta proteína, provocando su liberación y paso a las secreciones del exudado cervicovaginal. La identificación de esta proteína se realiza actualmente con dos métodos inmunológicos comerciales, uno por ELISA que es cuantitativo y otro cualitativo que es utilizando una tira reactiva DIPSTICK. El ELISA es un método que requiere equipo especial y su costo en México es de aproximadamente 42 dólares por muestra, la tira reactiva para fnOnc se ha propuesto como una opción para uso en el consultorio y sin necesidad de equipo especializado sin embargo su uso no se ha popularizado por carecer de sensibilidad y especificidad, dado los requerimientos muy especiales para su lectura e interpretación. De todo lo anterior, destaca la necesidad de desarrollar elementos útiles en la clínica que permitan identificar a las mujeres embarazadas que desarrollaran parto pretérmino y en consecuencia implementar un programa de vigilancia prenatal dirigido a esa población de riesgo.

3. JUSTIFICACION

La prevalencia del parto pretérmino en México y en el mundo es alta y no ha podido ser modificada.

Siendo esto una de las principales causas de internamiento de recién nacidos a las salas de terapia intensiva neonatal, y ocupando dichas salas durante un tiempo prolongado con altos costos y en un número importante de ocasiones con resultados no favorables para los neonatos. Se han realizado varios estudios con el fin de entender la fisiopatogenia del parto pretérmino y la RPM, que es una causa importante de parto pretérmino, sin llegar a una conclusión sólida, sobre la fisiopatogenia del desencadenamiento del parto antes del término. La posibilidad de prevenir el parto pretérmino y RPM, así como de detectar pacientes con riesgo de padecerlo, podrían poner en sobre aviso al personal de salud para tener vigilancia de dichas pacientes y en algunos casos adelantarse al hecho.

4. OBJETIVOS

Objetivo General

-Evaluar la utilidad en la determinación de la fibronectina oncofetal en exudado cervicovaginal de pacientes embarazadas con amenaza de parto pretérmino, como marcadores pronósticos del desarrollo del parto pretérmino

Objetivos Específicos

-Evaluar la utilidad de la determinación de fibronectina oncofetal por medio de una muestra exudados cervicovaginales de mujeres embarazadas que acuden al INPer con amenaza de parto pretérmino, para identificar el riesgo de evolucionar a parto pretérmino

5. DISEÑO DEL ESTUDIO.

Tipo de investigación

Observacional

Tipo de diseño

Estudio de cohorte

CARACTERISTICAS DEL ESTUDIO

En relación al método de observación

Longitudinal

En relación al tipo de análisis

Analítico

En relación a temporalidad

Prospectivo

6. METODOLOGIA.

Lugar y Duración

Instituto Nacional de Perinatología, duración aproximada de 18 meses.

Universo y tamaño de la muestra

Toda paciente que acuda al servicio de urgencias para control de amenaza de parto pretérmino. El tamaño de la muestra será de 8 pacientes que se resuelva su embarazo en parto pretérmino comparándolas con 8 pacientes con amenaza de parto pretérmino que se resuelva el embarazo a término. Este número de pacientes se calculo por medio de diferencia de proporciones sabiendo que la proporción del grupo 1 (parto pretérmino) es de .117 y la del grupo 2 (amenaza de parto pretérmino) es de .883. Con este número de pacientes se obtiene un poder de .95 y un poder de significancia alfa de .05

Métodos de Muestreo

Secreción cervicovaginal tomada de fondos de saco anterior y posterior

Criterios de Inclusión

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

Criterios de Exclusión

1. Que tengan complicaciones médicas u obstétricas del embarazo tales como placenta previa, malformaciones fetales mayores, incompetencia ístmico-cervical, polihidramnios, preeclampsia, eclampsia, ruptura prematura de membranas, epilepsia, malformaciones uterinas corioamnioititis o sepsis.

-
2. Que resuelvan el embarazo en una institución diferente al INPer.

Variables del estudio

Variables Independientes

- Parto pretérmino

Variables dependientes

- Concentración de fibronectina oncofetal

Definición de Variables:

Todos los expedientes de las pacientes incluidas, serán controlados por los investigadores participantes para verificar la edad gestacional al momento de la resolución del embarazo. Se considerará parto pretérmino, sin RPM, cuando se desarrolle parto espontáneo en embarazos con edad gestacional menor de 37 semanas. Se define como RPM como salida de líquido amniótico transvaginal por solución de continuidad de las membranas fetales al menos dos horas antes del inicio de trabajo de parto

La concentración de fibronectina oncofetal será determinada con el Kit comercial de la compañía Adeza, que se encuentra disponible en México y se aceptará el punto de corte en 50mg/dl para definir muestras positivas y negativas.

Se analizarán también todas las características clínicas que se obtendrán del expediente y se evaluarán como factores de riesgo para amenaza de parto pretérmino.

7. RECOLECCION DE DATOS

Las pacientes que participaran en el estudio de reclutarán en el servicio de Urgencias del INPer, cuando acudan por amenaza de parto pretérmino. En esta primera entrevista se les describirá el proyecto y se les invitará a participar en él.

A su ingreso se realizarán las siguientes maniobras:

1. Examen clínico e historia clínica completa
 - 1.1 Examen físico completo
 - 1.2 Diagnóstico de edad gestacional por fecha de última menstruación y confirmación por ultrasonido.

2. Pruebas de laboratorio
 - 2.1 Exudado vaginal
 - 2.1.1 Cuantificación de fnOnc por ELISA
 - 2.1.2 Cuantificación de MMP-9 por ELISA
 - 2.2 Biometría hemática completa

3. Se integrará una base de datos electrónica que incluirá la información que se describe en el anexo 3.

Estándar de oro. El valor pronóstico de las pruebas que serán utilizadas, será calculado con base en el desarrollo de parto pretérmino y su diagnóstico constituye la variable de desenlace final. Por otro lado, se utilizará la determinación de fibronectina oncofetal en secreciones cervicovaginales como un segundo estándar de oro para pronóstico de desarrollo de parto pretérmino, dado que es la prueba que mejores resultados ha mostrado como criterio de pronóstico de estas complicaciones obstétricas. Esta prueba se considera positiva cuando en la muestra de secreción cervicovaginal la cantidad de fibronectina oncofetal es superior a 50 µg/ml utilizando el dipstick que comercializa la compañía Adeza Biomedical (Palo Alto, CA, USA) y que será el que se utilizará en este estudio. La persona que realiza los ELISA permanecerá cegada a la clasificación de las pacientes y reportará los resultados a una persona diferente a los médicos clínicos que estarán en seguimiento de las pacientes, que será responsable de guardar el código de resultados y expedientes clínicos.

8. PLAN DE ANALISIS

Los resultados de la población estudiada serán analizados con estadística descriptiva. Los resultados de las pruebas de fnOnc serán analizados de dos maneras, en un primer enfoque se tomará el punto de corte definido para clasificar a cada prueba como positiva o negativa y se correlacionará con el desenlace del embarazo. Se construirán tablas de contingencia para analizar la sensibilidad y especificidad de la prueba para distinguir a las mujeres que desarrollan parto pretérmino. También se calculará valores predictivos positivos y negativos, así como riesgo relativo y coeficientes de confianza al 95%.

9. ASPECTOS ETICOS.

Dado que existen antecedentes en la literatura que permiten aceptar la determinación de fibronectina oncofetal como marcador pronóstico de parto pretérmino, cuando se encuentre una determinación positiva de la prueba, se informará al médico tratante de esa eventualidad para que considere el manejo de la paciente.

Hoja de Consentimiento Informado

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

“EVALUACIÓN DE LA FIBRONECTINA ONCOFETAL COMO MARCADOR CLÍNICO PRONOSTICO DEL PARTO PRETÉRMINO”.

INVITACIÓN DE PARTICIPACIÓN:

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

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

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

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

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

BENEFICIOS: Estudios de investigación han demostrado que la fibronectina oncofetal podría ser un buen marcador de riesgo aumentado para desarrollar parto pretérmino ó ruptura prematura de membranas. Si usted participa en este estudio, puede no haber ningún tipo de beneficio directo para usted por el momento, pero ayudará a determinar si ésta prueba podría servir para identificar en el futuro a mujeres en riesgo para tener parto pretérmino y/ó ruptura prematura de membranas.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

CONCLUSIONES:

1. Usted ha leído y entendido la presente forma de consentimiento.

2. Usted esta de acuerdo en participar en este estudio de investigación.
3. Al firmar abajo usted recibirá una copia de esta carta.

Nombre y firma del paciente / fecha/ hora

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

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

11. RESULTADOS

Fueron estudiadas un total de 52 pacientes con embarazos entre 22.3 y 36.1 semanas de gestación, de las cuales las 52 pacientes terminaron el presente estudio, a una paciente se le tomaron 2 muestras con 2.4 semanas de gestación de diferencia por lo que fueron analizadas un total de 53 muestras.

De las 52 pacientes que ingresaron en el estudio, 46 pacientes contaban con un embarazo con feto único (88.46%), 6 pacientes con embarazo múltiple de las cuales 5 con embarazo doble (9.61%) y 1 paciente con embarazo triple (1.92%).

Algunas de las características del grupo estudiado se presentan en la tabla 1, dentro de las cuales tomamos edad, número de embarazos (contando el embarazo actual), semanas de gestación a la que fué tomada la muestra, semanas de gestación a la que se resolvió el embarazo, vía de resolución y peso del recién nacido.

Características generales

Característica	Promedio	Intervalo
Edad (años)	26.49	17/40
Número de embarazos	2.54	1/7
Semanas de Gestación	30.5	22.3/36.1
Semanas de gestación ala resolución	35.6	26.3/40.6
Peso del Recién Nacido	2405.6 grs.	460/4160 grs.

Tabla 1

52 pacientes se estudiaron, de las cuales 28 (53.85%) llegaron a término en la evolución de su embarazo y 24 (46.15%) presentaron parto pretérmino (PP). Los factores de riesgo comprobados en la literatura para el desarrollo de parto pretérmino que se encontraron en las pacientes estudiadas son antecedente de parto pretérmino, el cual se encontraba presente en 6 pacientes (11.53%) y 46 (88.46%) pacientes no tenían este antecedente, de las 6 pacientes que se encontró el antecedente de parto pretérmino 3 de ellas tenían antecedente de un parto pretérmino (50%) y 3 antecedente de 2 partos pretérminos, 5 de estas 6 pacientes (83.3%) desarrollaron nuevamente parto pretérmino siendo las 3 del grupo de 1 antecedente y 2 del grupo de 2 pretérminos previos, y de las 46 pacientes que no tenían el antecedente de parto pretérmino 19 (41.3%) lo desarrollaron y las restantes 27 (58.7%) no desarrollaron parto pretérmino. Tabla 2 y 3

Desarrollo de PP		Sin antecedente	Con antecedente
No	28 (53.85%)	27 (96.5%)	1 (3.5%)
Sí	24 (46.15%)	19 (79.17%)	5 (20.83%)

Tabla 2

Antecedente de PP		Presentó PP	No Presentó PP
Sí	6 (11.53%)	5 (83.3%)	1 (16.7%)
No	46 (88.46%)	19 (41.3%)	27 (58.5%)

Tabla 3

En nuestro estudio el antecedente de parto pretérmino tuvo una sensibilidad del 20.8% una especificidad del 96.42% un valor predictivo positivo (VPP) del 83.33% y valor predictivo negativo (VPN) del 58.69% con un RR 2.02 (1.23-3.32), un OR de 7.1 (.76-65.8), un IC 95% y una p de .132.

Otro factor de riesgo comprobado es la dilatación que se encuentra al momento de la exploración, este factor de riesgo se ilustra en la tabla 3.

Dilatación (en centímetros)	Número de pacientes (%)
Cero (cerrado)	35 (67.92)
Uno	10 (18.86)
Dos	4 (7.54)
Tres	3 (5.66)

Tabla 4

De las 24 pacientes que desarrollaron PP, 12 (50%) tenían el cérvix cerrado, 5 (20.83%) tenían 1 cm. de dilatación, 4 con 2 cm. y 3 tenían 3 centímetros de dilatación, de las 28 pacientes que no desarrollaron PP, 23 (82.14%) tenían el cuello cervical cerrado y 5 (17.86%) tenían 1 cm. de dilatación, todas las pacientes con 2 o más centímetros de dilatación, al momento de la toma de muestra y exploración, desarrollaron PP. Tabla 5.

PP	Cerrado (%)	1cm.	2 cm.	3 cm
Sí	12 (50)	5 (20.83)	4 (16.7)	3 (12.5)
No	23 (82.14)	5 (17.86)	0 (0)	0 (0)

Tabla 5

Encontramos que la dilatación cervical nos representa un importante factor de riesgo para el desarrollo de parto pretérmino conforme esta dilatación avanza, siendo del 100% en aquellas pacientes que presentan una dilatación de 2 cm. o mayor, si tomamos en cuenta la dilatación cervical y la comparamos con aquellas pacientes que tenían el cerviz cerrado obtenemos una sensibilidad del 70.6% con una especificidad del 65.7% y un VPP del 50% con un VPN del 82.1%, RR del 2.8 (1.12-6.81), un OR de 4.6 (1.31-16.14), un IC del 95%, con una p de .03.

Los resultados de fibronectina oncofetal de pacientes con y sin desarrollo de parto pretérmino se muestran en la tabla 6.

Parto Pretérmino	FnOnc Positiva (%)	FnOnc Negativa (%)
Sí	13 (56.5)	10 (43.4)
No	5 (17.8)	23 (82.2)

Tabla 6

Estos resultados nos arrojan una sensibilidad del 56.5%, con una especificidad del 82.1%, un VPP 72.2% y un VPN 67.7%, el RR calculado es de 2.24 (1.25-4.02), el OR de 5.46 (1.53-19.6), con un IC 95% y una p .016. Para el cálculo de estos valores se decidió eliminar a la paciente del embarazo triple, ya que esta paciente se resolvió su embarazo a las 32.1 semanas de gestación siendo pretérmino, pero la interrupción del embarazo fue de manera electiva, y no por el desarrollo de parto pretérmino, 3 semanas posteriores a la toma de la muestra de FnOnc..

La vía de resolución más común en este estudio fue la abdominal, decidiéndose la operación cesárea en 36 pacientes (69.23%) y la vía vaginal en 16 (30.77%), valores que concuerdan con las estadísticas anuales en el Instituto.

12. DISCUSIÓN

El problema del parto pretérmino sigue siendo uno de los principales problemas a nivel internacional, ya que al desconocer exactamente que es lo que lo provoca y como se genera, las medidas que se toman es cuando ya se ha establecido la entidad. En Estados Unidos complica entre el 8 y 12% de todos los embarazos y es la causa principal de morbilidad y mortalidad neonatal. (36)

En el Instituto Nacional de Perinatología, de acuerdo al departamento de estadística, durante los años de 1999 a 2002 ingresaron 416 pacientes a la unidad de tococirugía para la utilización de uteroinhibidores de manera parenteral, de las cuales 49 pacientes desarrollaron parto pretérmino, lo que representa 11.77%, este porcentaje se encuentra dentro de los reportados por la literatura mundial.

La prematurez representa el 60 a 80% de las muertes neonatales en aquellos bebés sin malformaciones congénitas. (37) Es por esto que la identificación de mujeres con riesgo elevado para desarrollar parto pretérmino se ha vuelto una prioridad en los servicios de salud así como el desarrollo de nuevas herramientas clínicas para detectar de manera temprana las pacientes que desarrollarán parto pretérmino.

Se han tratado de idear numerosas pruebas para determinar aquellas pacientes que se encontraran en verdadero riesgo de desarrollar parto pretérmino como el estriol en saliva, la monitorización de la actividad uterina ambulatoria, la vaginosis bacteriana y la determinación de fnOnc en secreciones vaginales. La prueba ideal debería ser simple en su ejecución, así como en su interpretación y resultados.

En mujeres con sintomatología de parto pretérmino, el marcador más fuerte para la predicción de parto pretérmino descubierto a la fecha es la presencia de fibronectina oncofetal en las secreciones vaginales a concentraciones de por lo menos 50 ng/ml, después de las 20 semanas de gestación. (38,39).

En este estudio donde se analizaron pacientes que acudían con sintomatología de amenaza de parto pretérmino, la cual se corroboraba con tocografía, modificaciones cervicales y por palpación manual, nosotros tratamos de establecer una relación entre la presencia de fnOnc y el desarrollo subsecuente de parto pretérmino, encontrando que en estas pacientes que acuden con verdadero trabajo de parto pretérmino tienen un riesgo mayor de finalizar en parto pretérmino con un RR de 2.24, sin embargo nosotros encontramos que un resultado de fibronectina fetal tiene una sensibilidad del 56% y especificidad del 82.1%, lo que clínicamente nos traduce, que es más confiable que la prueba nos resulte negativa, por qué así sabremos que la paciente tendrá menos probabilidades de desarrollar parto pretérmino, Así mismo sucedió con el antecedente de parto pretérmino, ya

que aquellas mujeres que no tienen el antecedente tienen un 96.4% de probabilidades de no presentar el parto pretérmino.

La presencia de una prueba de fibronectina fetal positiva en el segundo trimestre del embarazo está fuertemente asociada con el desarrollo de parto pretérmino, este examen tiene una baja sensibilidad y actualmente se usa por su especificidad y su VPN. Esto es que aquellas pacientes que resulten negativas en su prueba, tendrán un bajo riesgo de desarrollar parto pretérmino y esto significará, no realizar intervenciones para prevenir el parto pretérmino. Una de las principales limitaciones de la prueba de fibronectina fetal y otros marcadores bioquímicos, es el hecho de que mientras estos marcadores pueden ayudar a identificar a aquellas pacientes que se encuentran en riesgo elevado de presentar parto pretérmino, las intervenciones obstétricas que deberán llevarse a cabo con estas pacientes aún no están bien delimitadas. El uso de antimicrobianos, tocolíticos, y la terapia con progesterona, ha probado tener poco beneficio en el manejo de éstas pacientes.

13. CONCLUSIONES

Una prueba de fibronectina fetal negativa, es de mayor utilidad clínica, ya que esta nos servirá para determinar aquellas pacientes que no desarrollarán parto pretérmino.

El antecedente de parto pretérmino, así como la dilatación cervical en el segundo trimestre, y en especial mayor a 2 cm., son factores de riesgo para el desarrollo de parto pretérmino.

Es necesario desarrollar planes de manejo efectivos para aquellas pacientes que se identifican como pacientes de riesgo elevado para el desarrollo de parto pretérmino.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

14. BIBLIOGRAFIA

1. Anuario Estadístico. Instituto Nacional de Perinatología. Edición 2000
2. Rogowski, J. The economics of preterm delivery. *J Perinatol.* 1999. 55: 12-14.
3. Mercer, B. Goldenberg, R. Das, A. et al. The preterm prediction study: a clinical risk assessment system. *Am J Obstet Gynecol* 1996. 174:1885-95.
4. Konte, J. Creasy, R. Laros RK. California north coast preterm birth prevention project. *Obstet Gynecol* 1988 71:727.
5. Main, D. Richardson, D. Hadley, C. Gabbe, S. Controlled trial of a preterm labor detection program: efficacy and costs. *Obstet Gynecol* 74:873.
6. Vadillo-Ortega, F. González, G., Karchmer, S. Meraz, N. Ayala, A. Selman, M. Collagen Metabolism in premature rupture of amniotic membranes. *Obstet Gynecol* 1999. 75:84-88.
7. Parry, S. Strauss, J. Premature rupture of the fetal membranes. *N Eng J Med* 1998. 338:663-70.
8. Goldenberg, R. Mercer, B. Meis, P. Koper, R. et al. The preterm prediction study: fetal fibronectin testing and spontaneous preterm birth. *Obstet Gynecol* 1996. 87:643-8.
9. Goldenberg, R. Mercer, B. Iams, J. Moawad, A. et al. The preterm prediction study: patterns of cervicovaginal fetal fibronectin as predictors of spontaneous preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1997. 177:8-12.
10. Weeks, J. Predicting preterm birth with fetal fibronectin. *OBG Manag* 2000. 4: 83-86.
11. Ahner, R. Et al. Fetal fibronectin as a marker to predict the onset of term labor and delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1995. 172, 1. 134-137
12. Morrison, J. Et al. Oncofetal fibronectin in patients with false labor as a predictor of preterm delivery. *Am J Obstet Gynecolo* 1993. 168,2. 538-542.
13. ACOG Practice Bulletin. Assesment of Risk Factors for preterm birth. Clinical Management guidelines for Obstetrician-Gynecologists 2001. 31. 1-6.
14. Iams, J. Preterm birth. *Obstetrics: normal and problem pregnancies.* 3rd ed. New York 1996. 743-820.
15. Ventura, S. Births: final data for 1999. *Nat Vital Stat Rep* 2001. 49,1. 1-100.ç

-
16. Goldenberg, R. Et al. The preterm prediction study: value of new vs standard risk factors in predictin early and all spontaneous preterm births. *Am J Public Health* 1998. 88. 233-238.
 17. Norwitz,E. Robinson, J. Challis, J. The control of labor. *N Eng J Med* 2000. 342. 1500-1507.
 18. Lockwood, C. Stress-associated preterm delivery: the role of corticotropin-releasing hormone. *Am J Obstet Gynecol* 1999. 180. S264-S266.
 19. Antenatal corticosteroids revisited: repeat courses. *NIH Conses Statement* 1994. 12 (2). 1-24
 20. Lumley, J. The epidemiology of preterm birth. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1993. 7. 477-498.
 21. Ekwo, E. Gosselink, C. Moawad, A. Unfavorable outcome in penultimate pregnancy and premature rupture of membranes in successive pregnancy. *Obstet Gynecol* 1992. 80. 166-172.
 22. Strobino, B. Pantel-Silverman, J. Gestational vaginal bleeding and pregnancy outcome. *Am J Epidemiol* 1989. 129. 806-815.
 23. Lockwood, C. Et al. Fetal fibronectin in cervical and vaginal secretions as a predictor of preterm delivery. *N Eng J Med* 1991. 325. 669-674
 24. Ramsey, P. Andrews, W. Biochemical predictors of preterm labor: fetal fibronectin and salivary estriol. *Clin Perinatol* 2003. 30. 701-733.
 25. Goldenberg, R. Et al. The preterm prediction study: fetal fibronectin, bacterial vaginosis, and peripartum infection. *Obstet Gynecol* 1996. 87. 656-660
 26. Goldenberg, R. Et al. The preterm prediction study: sequential cervical lenght and fetal fibronectin testing for the prediction of spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2000. 182. 636-647.
 27. Klingeman, H. Fibronectin: Klinische und biologishe aspekte. *Dtsch Med Wochenschr* 1982. 107. 1361-1365.
 28. Goepfert, A. Et al. The preterm prediction study: Quantitative fetal fibronectin values and the prediction of spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2000. 183. 1480-1483.

29. Goldenberg, R. Et al. The preterm prediction study: patterns of cervicovaginal fetal fibronectin as a predictors of spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 1997. 177. 8-12.
30. Mckenna, D. Chung, K. Iams, J. Effect of digital cervical examination on the expression of fetal fibronectin. *J Reprod Med* 1999. 44. 796-800.
31. Leeson, S. Et al. Detection of fetal fibronectin as a predictor of preterm delivery in high risk asymptomatic pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol* 1996. 103. 48-53.
32. Eriksen, N. Parisi, V. Daoust, S. Flamm B. Garite, T. Cox, S. Fetal fibronectin: a method of detecting the presence of amniotic fluid. *Obstet Gynecol* 1992. 80. 451-454.
33. Lockwood, C. Et al. The presence of cervical and vaginal fetal fibronectin predicts preterm delivery in an inner-city, obstetric population. *Am J Obstet Gynecol* 1993. 169. 798-804.
34. Honest, H. Bachman, L. Gupta, J. Kleijnen J. Khan, K. Accuracy of cervicovaginal fetal fibronectin test in predict risk of spontaneous birth: systematic review. *BMJ* 2002. 325. 1-10.
35. Joffe, G. Jacques, D. Bemis-Heys, R. Burton, R. Skram, B. Shelburne, P. Impact of the fetal fibronectin assay on admissions for preterm labor. *Am J Obstet Gynecol*. 1999. 180. 581-586.
36. Goldenberg, R. The management of preterm labor. *Obstet Gynecol* 2002. 100. 1020-1037.
37. McCormick, M. The contribution of low birthweight to infant mortality and childhood morbidity. *N Eng J Med* 1985. 312. 82-90.
38. Iams, J. Casal, D. et al, Fetal fibronectin improves the accuracy of diagnosis of preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1995. 173. 141-145.
39. Faron, G. Boulvian M. Et al. Prediction of preterm delivery by fetal fibronectin: A meta-analysis. *Obstet Gynecol* 1998. 92. 153-158.