

11217



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA
ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES

FRECUENCIA DEL POLIMORFISMO TNF2 EN
MUJERES CON ABORTO RECURRENTE
DE FACTOR NO IDENTIFICADO

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
ESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA
Y OBSTETRICIA

PRESENTA:
DRA. ELIZABETH PÉREZ MARTÍNEZ

PROFESOR TITULAR:
DR. VALENTÍN IBARRA CHAVARRÍA

TUTOR:

DR. JAVIER MANCILLA RAMÍREZ

COTUTOR:

DRA. MA. MAGDALENA ENRÍQUEZ PÉREZ



MÉXICO, D.F. INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA

2005



DIRECCION DE ENSEÑANZA

0348510



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA

ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES

TESIS DE ESPECIALIDAD

GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

ELIZABETH PÉREZ MARTÍNEZ

Vo. Bo.



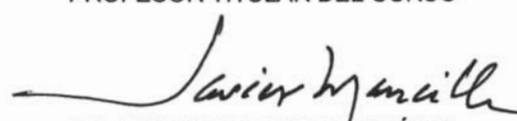
DR. RICARDO GARCÍA CAVAZOS
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA



DR. CARLOS NERI MÉNDEZ
SUBDIRECTOR DE EDUCACIÓN PROFESIONAL



DR. VALENTÍN IBARRA CHAVARRÍA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO



DR. JAVIER MANCILLA RAMÍREZ
DIRECTOR DE TESIS

DRA. MA. MAGDALENA ENRÍQUEZ PÉREZ
CODIRECTOR DE TESIS

AGRADECIMIENTOS

GRACIAS

A MIS PADRES POR TENER EN ELLOS EL AMOR Y EL APOYO INCONDICIONAL PARA TODO. POR SER LA INSPIRACIÓN PARA LUCHAR POR CADA SUEÑO... POR SER MIS ALAS PARA PODER VOLAR.

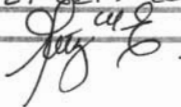
GRACIAS

YAVÉ, POR TU PACIENCIA Y APOYO EN TODO MOMENTO, PERO SOBRE TODO POR ENSEÑARME QUE CADA INSTANTE CUENTA Y HAY QUE VIVIRLO INTENSAMENTE... POR TU MANERA DE VER LA VIDA Y POR TODO EL AMOR QUE HE RECIBIDO.

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

NOMBRE: ELIZABETH PEREZ MARTINEZ

FECHA: 27. SEPT. 2005.

FIRMA: 

GRACIAS

TITA Y SIS POR ESTAR AHÍ CUANDO HACE FALTA.

GRACIAS

A TODAS LAS PERSONAS QUE CONTRIBUYERON A LA REALIZACIÓN Y CULMINACIÓN DE ESTE PROYECTO. GRACIAS NORA.

GRACIAS

A TODOS MIS COMPAÑEROS DE ESTE CAMINO, A MIS AMIGOS INCONDICIONALES POR SER MI PEQUEÑA FAMILIA LEJOS DE CASA.

	Página
Introducción	1
Aborto recurrente	1
Factores de riesgo a investigar en la paciente con pérdida gestacional	
Recurrente	7
Clínica de Riesgo Pregestacional INPer	9
Planteamiento del problema	11
Justificación	11
Pregunta de investigación	12
Objetivo	12
Hipótesis	12
Diseño del estudio	12
Material y Métodos	13
Resultados	20
Discusión	23
Anexos	24
Bibliografía	28

ABORTO RECURRENTE

El aborto espontáneo es una de las complicaciones más comunes del embarazo, afectando 15% de las mujeres embarazadas. Aproximadamente 0.5 a 2% de las mujeres experimentan abortos recurrentes. ⁽¹⁾ La pérdida gestacional recurrente es definida frecuentemente como dos o más pérdidas consecutivas. ⁽²⁾

Dependiendo de la edad gestacional al momento del aborto, se ha propuesto que existen tres tipos diferentes de pérdidas:

- a. **Preclínica**, cuando sucede antes de las 6 semanas de gestación
- b. **Embriónica**, cuando ocurre mayor a 6 semanas pero menor de 10
- c. **Fetal**, cuando es mayor de 10 semanas y menor de 20

Sin embargo, después de una investigación intensiva, de acuerdo a los protocolos ya establecidos, en cerca de 50% de los casos no se llega a la causa de la pérdida. ⁽³⁾

FACTORES DE RIESGO A INVESTIGAR

FACTOR GENÉTICO

Las anomalías cromosómicas son la causa principal de pérdida del embarazo en aproximadamente 50% de los casos, dependiendo de la edad materna y de la edad gestacional al momento de la pérdida. ⁽⁴⁾ Entre más temprano es un aborto, más probable es que se encuentren anomalías cromosómicas en el producto. Se ha propuesto que las anomalías cromosómicas ocurren en aproximadamente 4% de las parejas con pérdida recurrente. El grupo más grande de las poliploidias, halladas en el aborto espontáneo del primer trimestre son las trisomías (principalmente de los cromosomas 13, 16, 18, 21 y 22). ⁽⁵⁾ La anomalía más común es una traslocación balanceada, incluyendo traslocaciones recíprocas y Robertsonianas. Las anomalías cromosómicas se detectan usando técnicas convencionales para cariotipo. Algunos autores encontraron que 16.7% de las mujeres con pérdida gestacional inexplicable tienen inactivación preferencial del cromosoma X, comparado con

5.6% en los grupos controles. ⁽⁶⁾ Se deberá investigar el cariotipo de la pareja, así como también, de ser posible, de los productos de aborto.

FACTOR ANATÓMICO

Se pueden subrayar cuatro categorías de defectos anatómicos que pueden ser causa de aborto recurrente o pérdida gestacional recurrente (PGR):

- a) *El proceso normal de la formación uterina (Malformaciones Müllerianas).* Se ha comprobado que las anomalías müllerianas son las responsables en gran parte de la pérdida gestacional recurrente, no sólo de los abortos recurrentes sino también de las ocurridas después de la semana 20 de gestación.

A pesar de que no se conoce con exactitud la incidencia de anomalías müllerianas en la población general, algunos reportes indican que aproximadamente 2-4% de las mujeres se ven afectadas. ⁽⁷⁾ Entre las mujeres con fertilidad normal, Raga y colaboradores encontraron una razón de 4:1 de útero septado a útero bicorne, y una razón de 1:1 en mujeres con problemas reproductivos, incluyendo abortos, parto pretérmino y malpresentación fetal. ⁽⁸⁾

Entre las anomalías congénitas el útero septado es el que se relaciona en mayor cantidad con Pérdida Gestacional Recurrente (PGR). Se ha encontrado que en ésta entidad, el endometrio muestra desarrollo defectuoso, indicando una reducción importante en cuanto a la sensibilidad a las hormonas esteroideas. ^(9, 10)

- b) *El desarrollo del cuerpo del cérvix, secundario a la ingesta de dietilestilbestrol (DES) durante el embarazo.* Existen muchas teorías por las cuales existe infertilidad en este tipo de pacientes. Se ha demostrado que existe una disminución importante en el engrosamiento del endometrio, particularmente en la fase lútea. Esto puede reflejar en pobre soporte endometrial para el embarazo temprano. La perfusión sanguínea de las arterias uterinas se encuentra disminuída, lo que también perjudica la implantación.

- c) *Reducción de la capacidad o en la circulación uterina debido a miomatosis, pólipos endometriales o tejido cicatricial (Síndrome de Asherman)*. El síndrome de Asherman es una condición adquirida la cual se representa por la presencia de adherencias intrauterinas post-traumáticas, parciales o completas que obliteran la cavidad uterina. La respuesta endometrial a las hormonas esteroideas se encuentra reducida en áreas afectadas por las adherencias o la fibrosis. ⁽⁹⁾

La miomatosis uterina puede afectar la implantación e incrementa el riesgo de aborto, principalmente con los miomas submucosos. Los leiomiomas pueden alterar la vascularización del endometrio que está sobre el tumor y afectar la implantación. Si el mioma reemplaza una pared completa del útero, entonces puede interferir con el suministro sanguíneo de las estructuras uterinas que rodean o en el sitio de implantación del embrión. Si su crecimiento es predominante hacia el exterior del útero con proyección a la pelvis o al abdomen entonces su crecimiento es exagerado con un aporte sanguíneo propio y puede degenerar o infectarse. Esto puede producir dolor intenso e irritabilidad. Lo más frecuente es que los miomas causen problemas una vez establecido el embarazo, pues aumenta la incidencia de abortos recurrentes, partos prematuros, presentaciones fetales anormales, distocias, y el desprendimiento prematuro de placenta. ⁽⁵⁾

- d) *Función cervical*. La incidencia de la incompetencia ístmico cervical (IIC) es 0.05 a 1% de todos los embarazos, pero es responsable de 16% de todos los abortos del segundo trimestre. Se debe sospechar el diagnóstico cuando existe una historia de pérdidas gestacionales de segundo trimestre caracterizada por pérdidas cada vez de menor edad gestacional, al igual que con antecedente de legrados de repetición lo que podría haber traumatizado el cérvix y causar la IIC.

FACTOR HEMATOLÓGICO

- a) *Estado protrombótico*. El Síndrome de anticuerpos antifosfolípido es una causa bien reconocida de pérdida recurrente y ha sido reportada de 7 a 42% de las mujeres.

Los anticuerpos antifosfolípido (AAF) inducen, a nivel de la decidua, activación del complemento, producción de mediadores inflamatorios y como consecuencia, la pérdida del embarazo. La liberación de factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) es factor crítico que actúa con la activación de C5 y se suma al daño provocado por AAF hacia tejidos fetales.^(11, 12) El diagnóstico requiere del cumplimiento de al menos uno de los siguientes criterios clínicos:

1. Tres o más abortos espontáneos consecutivos antes de la 10ª semana de embarazo, con anomalías maternas hormonales y anatómicas y excluir anomalías cromosómicas tanto maternas como paternas.
2. Una o más muertes con un feto normal posterior de la 10ª semana de gestación, documentado por ultrasonido o por examinación directa del feto.
3. Uno o más nacimientos prematuros de un neonato morfológicamente normal a las 34 semanas o más debido a preeclampsia severa o eclampsia o insuficiencia placentaria severa.⁽⁹⁾

En adición de una anomalía persistente de uno de los siguientes exámenes medidos al menos en dos ocasiones con una diferencia entre ellos mayor de 6 meses:

1. Anticoagulante lúpico.
2. Anticuerpos antifosfolípido: son anticuerpos IgG o IgM contra cardiolipina.

b) *Trombofilia heredable.* Existen 5 entidades relacionadas como: deficiencias de antitrombina, proteína C o proteína S, que son raros; factor V de Leiden, que es común en la población británica, y protrombina.

Otras anomalías hematológicas: como trombocitopenia esencial que se asocia con incremento en el riesgo de pérdida fetal, a razón de 36 al 37%.⁽⁹⁾

FACTOR ENDOCRINO - OVÁRICO

a) *Hipersecreción de Hormona Luteinizante (LH).* Se ha considerado como marcador de pérdida gestacional, algunos estudios examinaron la prevalencia de niveles altos y ovarios poliquísticos entre mujeres con pérdida recurrente y la encontraron en 8%.

- b) *Niveles altos de andrógenos*: dos estudios recientes han demostrado que los niveles de andrógeno en la fase folicular son más altos en mujeres con antecedente de pérdida recurrente que los controles. ⁽⁹⁾
- c) *Hiperprolactinemia*: Tal y cols. reportaron que la prolactina, una hormona relacionada con el estrés, reduce la secreción de HCG desde la placenta. Hirahara y cols. reportaron que el uso de bromocriptina en 64 mujeres con dos o más pérdidas e hiperprolactinemia, produjo embarazos exitosos en 85.7% de las pacientes. ⁽⁹⁾

FACTOR INFECCIOSO

Estas infecciones pueden causar alteraciones anatómicas o genéticas en el embrión o en el feto a través de metabolitos tóxicos, endotoxinas, exotoxinas o citocinas que actúan sobre el útero y sobre la unidad fetoplacentaria. *Listeria monocytogenes* puede causar aborto espontáneo, así como parto pretérmino e infección neonatal, pero no se ha demostrado como factor etiológico en los abortos de repetición. *Treponema pallidum* es el único agente comprobado como causante directo en las pérdidas gestacionales recurrentes (segundo trimestre), ya que atraviesa la placenta en cualquier momento del embarazo. *Chlamydia trachomatis*, existen estudios que sugieren que existe asociación entre éste agente y el aborto habitual. *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* se detectan frecuentemente en mujeres con pérdida recurrente, sin embargo la eliminación no garantiza el resultado satisfactorio del embarazo. ⁽⁵⁾

FACTOR INMUNOLÓGICO

Se asume frecuentemente que los mecanismos inmunológicos se relacionan con una implantación exitosa. El embrión contiene antígenos paternos y puede considerarse entonces al embarazo como un aloimplante. La adaptación materna a las respuestas inmunológicas a la implantación del embrión es la llave para un establecimiento exitoso de la placenta. El aborto puede ser una consecuencia de un fallo en la implantación, secundaria a una respuesta inmunológica inapropiada hacia el embrión. ^(13, 14)

- a) *Las alteraciones en la respuesta inmune humoral.* Los anticuerpos son más comunes en pacientes con pérdida gestacional. Los anticuerpos que son identificados con mayor frecuencia incluyen los anticuerpos antifosfolípido y anticuerpos antinucleares. Los anticuerpos antiesperma se asocian a infertilidad masculina, pero no existe asociación entre éstos y la pérdida esporádica del embarazo o en aborto recurrente.

Pratt y cols. reportaron que 31% de las mujeres con pérdida recurrente tiene un examen positivo a anticuerpos tiroideos (peroxidasa y tiroglobulina), comparado con 19% del grupo control. La asociación entre PGR y anticuerpos tiroideos puede ser el resultado de un efecto directo de estos anticuerpos contra tejido fetal o que estos anticuerpos representen únicamente una parte de un defecto generalizado de autoinmunidad.

- b) *Alteraciones en la respuesta inmune celular.* Algunos estudios han reportado cambios significativos en las células inmunocompetentes circulantes de mujeres con PGR. Las alteraciones de la inmunidad celular también se han examinado a nivel local, en el endometrio y la decidua. Cerca del tiempo de la implantación, aproximadamente 20% del estroma celular endometrial son leucocitos, de los cuales la mayoría son granulares que son similares a las células Natural Killer (NK), pero expresan diferentes marcadores celulares. La PGR se asocia con una alteración en la población de leucocitos a nivel endometrial, especialmente un incremento en las células CD 56. ⁽¹⁵⁾

Los macrófagos endometriales, las células NK, los neutrófilos y las células placentarias producen citocinas, las cuales son parte importante de la interfase feto-materna en los primeros días del embarazo. Las citocinas como interleucina (IL)-3, factor estimulante de granulocitos-macrófagos, y factor estimulante de crecimiento epidérmico estimulan la proliferación celular *in vitro*, y pueden ser capaces de estimular al trofoblasto para producir hormona gonadotrofina coriónica y lactógeno placentario. Estas citocinas se clasifican como citocinas Th2 y se ha visto que son benéficas para el desarrollo del embarazo. ^(16, 17)

La prevalencia de las respuestas inmunes dominantes de las células Th1 en la sangre periférica puede reflejar la contribución de sus citocinas al aborto habitual. ⁽¹⁸⁾ Un embarazo normal se caracteriza por un aumento en la respuesta anti-inflamatoria (Th2) que se cree que protege al feto contra los ataques maternos de la respuesta inmune proinflamatoria (Th1). ⁽¹⁹⁾

Las citocinas Th1 pueden perjudicar al embarazo, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) puede activar las células NK en la interfase feto-materna, permitiendo la apoptosis y la muerte celular del trofoblasto. La administración de TNF α o de lipopolisacárido (LPS), el cual induce al TNF α , resulta en pérdida gestacional o restricción del crecimiento embrionario. En el embarazo normal, el sistema inmune modula la expresión de las citocinas favoreciendo la aparición de las citocinas Th2. ^(3, 20)

FACTOR DE NECROSIS TUMORAL Y SUS POLIMORFISMOS

TNF α es una citocina polipeptídica pleiotrópica proinflamatoria que es producida por varias células, incluyendo macrófagos activados, en respuesta a un amplio rango de estímulos, como productos microbianos, virus y complejos inmunes. Esta citocina inhibe la proliferación celular amniótica, estimula la biosíntesis de prostaglandinas, induce la apoptosis y estimula la producción de enzimas que degradan la matriz extracelular. ⁽²¹⁾ Ha sido implicado como mediador del choque séptico y muerte. ⁽²²⁾ TNF α juega un papel muy importante en la regulación de la síntesis hormonal, la arquitectura placentaria, y el desarrollo embrionario ⁽²³⁾ en el que ha sido atribuido a sus efectos reguladores en la muerte celular programada, en el crecimiento y diferenciación celular y la adherencia de moléculas. ⁽²⁴⁾

Algunos estudios sugieren que un incremento significativo en la concentración de TNF α se asocia con inicio de trabajo de parto, ya sea de término o pretérmino. Estas observaciones sugieren que TNF α juega un papel importante en la estimulación de la producción de prostaglandinas, inducir apoptosis, y estimular la degradación de la matriz celular. ^(22, 25) Se ha

sugerido en estudios *in vitro* que TNF α puede promover directamente el daño tisular durante el embarazo en el cual, monocitos maternos activados por TNF α inducen apoptosis a nivel del sincitiotrofoblasto. ⁽²⁵⁾

La producción de TNF α puede inducir el aborto indirectamente por medio de la activación de las células endoteliales y los leucocitos. Los neutrófilos y monocitos estimulados por TNF α liberan mediadores inflamatorios, incluyendo oxidantes, enzimas proteolíticas y componentes del complemento, que dañan directamente el tejido decidual, acelerando la vía alternativa de activación del complemento, lo que incrementa la producción de TNF α y amplifica el daño celular con inflamación local. También es posible que el trofoblasto amplifique el daño local secretando TNF α por sí mismo, en respuesta a la activación del complemento. Los tejidos placentarios expuestos a hipoxia-reoxigenación *in vitro* expresan y secretan niveles elevados de TNF α , apoyando la teoría que el trofoblasto por sí mismo es una fuente de citocinas proinflamatorias. ⁽¹¹⁾

IFN γ y TNF α inhiben el crecimiento trofoblástico y la diferenciación celular. Ciertos polimorfismos genéticos de algunas citocinas influyen en su nivel de producción, y se asocian con mayor susceptibilidad a enfermedades inflamatorias e infecciosas, así como a una mayor frecuencia de complicaciones. ⁽²⁷⁾

Se ha demostrado que los polimorfismos de TNF α y de IL-1 β influyen la secreción de la proteína, y pueden tener repercusiones fenotípicas en ciertas condiciones dependiendo del alelo que posea.

El locus TNF se localiza en el cromosoma 6 junto con el del complejo mayor de histocompatibilidad IV. Al menos 9 polimorfismos y cinco microsatélites del locus TNF han sido caracterizados y algunos de estos tienen una asociación con ciertos alelos HLA. Dos de estos polimorfismos han sido descritos como asociados como formas severas de enfermedades infecciosas. ⁽²⁸⁾

Un polimorfismo en la región promotora del gen de $TNF\alpha$ ha sido recientemente descrito, una sustitución de guanina (G) por adenina (A) en la posición -308. Cuando existe una sustitución A en una o en ambas copias del gen (G/A o A/A), el cambio se refiere como un genotipo TNF2 y se asocia con un aumento de 5 veces en la producción de $TNF\alpha$.⁽²⁸⁾ El genotipo TNF1 se refiere a (G/G). El alelo TNF2 ha sido asociado con el incremento en la severidad de los síntomas en un número de condiciones patológicas como asma, malaria cerebral, esclerosis múltiple, meningitis meningocócica y el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica.^(6, 29)

Se ha propuesto que las mujeres con el polimorfismo TNF2 pueden tener una expresión mayor de la proteína en respuesta a infecciones subclínicas, lo que podría resultar en aborto espontáneo y en la dilatación cervical.^(29, 30)

Los mecanismos mediante los cuales una infección subclínica permite el desarrollo de parto pretérmino es aún desconocido. Un factor crítico podrían ser los niveles de citocinas proinflamatorias, como $TNF\alpha$, que es producido por la madre en respuesta a la infección del tracto genital, y que aumenta la producción de metaloproteasas que degradan la matriz de colágeno. Se ha demostrado que TNF2 es más activo en las células del trofoblasto y del amnios que el TNF1.^(28, 29)

Se ha demostrado que existe un incremento en la frecuencia de los polimorfismos A/A y A/G de $TNF\alpha$ en mujeres con aborto habitual (25% versus 18%). Se ha identificado que el alelo TNF2 se asocia con el incremento en la producción de esta citocina.⁽²⁷⁾

CLÍNICA DE RIESGO PREGESTACIONAL INPer

En el Instituto Nacional de Perinatología en la Clínica de Riesgo Pregestacional se realiza un protocolo de investigación dirigido a identificar la etiología del aborto habitual, en la primera consulta se realiza una historia clínica completa investigando de manera dirigida la edad

gestacional al momento de la pérdida del embarazo y posible causa, se solicitan exámenes básicos de laboratorio como biometría hemática, examen general de orina, química sanguínea, grupo sanguíneo, así como cultivos cérvico-vaginales, pruebas de función tiroidea, anticuerpos antifosfolípido, estudio inmunológico para infecciones, VIH y antígeno de superficie de hepatitis B.

Posteriormente y dependiendo de los antecedentes de cada paciente se envían estudios especiales para identificar posibles factores involucrados:

1. Factor anatómico

- a) Malformaciones congénitas o adquiridas: Ultrasonografía, histero-salpingografía, sonohisteroscopia, laparoscopia, histerocopia.
- b) Insuficiencia ístmico-cervical: Antecedentes perinatales, histerosalpingografía y prueba de dilatador.

2. Factor genético

- a) Cariotipo de la pareja, estudio genético, estudio citogenética de tejido de aborto DNA.

3. Factor inmunológico

- a) Síndrome antifosfolípido: Criterios clínicos y de laboratorio, anticuerpos anticardiolipina IgG o IgM en sangre, anticoagulante lúpico, anticuerpos antibeta-2 glicoproteína IgM, IgG o IgA.
- b) Anticuerpos tiroideos: El diagnóstico se realiza por exclusión, no existiendo pruebas diagnósticas directas.

4. Factor endócrino

- a) Fase lútea deficiente: ultrasonografía endometrial, medición de las concentraciones de progesterona, biopsia de endometrio.
- b) Diabetes mellitus: Examen físico detallado con especial interés en: presión arterial, estudio oftalmoscópico completo, revisión cardiovascular, revisión coronaria, revisión de miembros inferiores, y estudios de laboratorio como hemoglobina glicosilada, Pruebas de función renal

5. Factor infeccioso

- a) Se realizan cultivos especiales para Micoplasma y Ureaplasma, TORCH, anticuerpos anti Chlamydia, VDRL.

Como se ha descrito anteriormente, en aproximadamente 50% de las pacientes, a las cuales se les realizan todos estos estudios, no se llega a conocer la etiología del aborto habitual, cayendo entonces en la categoría de pacientes con factor no identificado.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La etiología del aborto de repetición no se identifica hasta en 50% de los casos, aún después de un estudio exhaustivo de causas anatómicas, hormonales, genéticas, protrombóticas e infecciosas.

Ciertos polimorfismos de citocinas pueden afectar el curso normal del embarazo. Una de estas citocinas es $TNF\alpha$, cuya expresión aumenta cuando está presente el polimorfismo $TNF -308$ ($TNF2$), el cual se asocia a una mayor frecuencia de parto pretérmino y de ruptura prematura de membranas.

Por lo cual, proponemos que dicho polimorfismo también podría ser más frecuente en mujeres con aborto recurrente y sin causa identificada.

JUSTIFICACIÓN

El aborto recurrente es un problema relativamente frecuente en nuestro medio (1-2% de todos los embarazos). En el Instituto Nacional de Perinatología se han estudiado en la Clínica de Riesgo Pregestacional aquellas pacientes con dos o más abortos de repetición, encontrando un número importante de casos en que el factor etiológico aún no ha sido identificado. La identificación de una posible asociación del polimorfismo $TNF2$ en estas pacientes daría una idea de un factor etiológico más que investigar y en un futuro se podría contar con algún recurso terapéutico, tal como modular la producción aumentada de $TNF\alpha$, para mejorar el pronóstico de este tipo de pacientes.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la frecuencia del polimorfismo TNF2 con aborto recurrente de factor no identificado en pacientes atendidas en la Clínica de Riesgo Pregestacional del INPer?

OBJETIVOS

GENERAL

Determinar la frecuencia asociación del polimorfismo TNF2 y aborto recurrente de factor no identificado en pacientes atendidas en la Clínica de Riesgo Pregestacional del INPer.

ESPECÍFICOS

Comparar la frecuencia del polimorfismo TNF2 en mujeres con aborto recurrente sin factor identificado, con aquellas con factor identificado y con mujeres sin antecedentes de aborto.

HIPÓTESIS

La frecuencia de asociación del polimorfismo TNF2 en pacientes con aborto recurrente de factor no identificado es mayor que en las pacientes con factor identificado y que en mujeres sin antecedentes de aborto.

TIPO DE INVESTIGACIÓN:

Observacional, transversal, comparativo.

TIPO DE DISEÑO:

Estudio de casos y controles

CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO:

Observacional

Prospectivo

Transversal

Analítico

MATERIAL Y MÉTODOS

POBLACIÓN DE ESTUDIO

Está constituida por pacientes que acuden a la Clínica de Riesgo Pregestacional y hospitalización o consulta externa de Obstetricia del INPer para su atención.

MÉTODO DE MUESTREO

El muestreo fue no probabilístico, de casos consecutivos.

TAMAÑO DE MUESTRA

Se utilizó una fórmula para diferencia de proporciones, tomando como referencia la frecuencia del polimorfismo a estudiar en aborto habitual (30%) y en población general (10%). La muestra se formó con las pacientes que cumplieron los criterios de selección y que fueron estudiadas conforme al protocolo de la clínica de riesgo pregestacional del INPer. Los

controles se tomaron de quienes se encontraban en su vigilancia del puerperio en hospitalización del INPer durante el período de estudio.

$$P_1 = 0.1 \quad \beta = 0.2 \quad Z\beta = -0.84$$

$$P_2 = 0.3 \quad \alpha = 0.05 \quad Z\alpha = 1.96$$

$$n = \frac{[Z\alpha \sqrt{2(P_1)(1-P_1)} - Z\beta \sqrt{P_2(1-P_2) + P_1(1-P_1)}]^2}{P_2 - P_1}$$

$$n = \frac{[1.96\sqrt{2(0.10)(1-0.10)} - (-0.84)\sqrt{(0.3)(1-0.3) + 0.10(1-0.10)}]^2}{0.30 - 0.10}$$

$$n = \frac{[1.96\sqrt{0.18} + 0.84\sqrt{0.21 + 0.09}]^2}{0.20}$$

$$n = \frac{[0.83 + 0.46]^2}{0.20} \quad n = 41.6$$

El tamaño de muestra fue de 42 sujetos por cada grupo.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

INCLUSIÓN

CASOS

1. Edad 17 a 38 años.
2. Sexo femenino.
3. Con aborto recurrente de causa no identificada habiendo completado el protocolo de la Clínica de Riesgo Pregestacional.
4. Mexicanas por nacimiento.
5. Consentimiento informado por escrito.

Nota: El protocolo de la Clínica de Riesgo Pregestacional incluye: Cariotipo, perfil trombofílico, pruebas de función tiroidea, concentraciones séricas de prolactina, histerosalpingografía, cultivos especiales para *Mycoplasma* y *Ureaplasma*, VIH, TORCH, VDRL.

CONTROLES

1. Edad 17 a 38 años.
2. Sexo femenino.
3. Con aborto recurrente de causa identificada habiendo completado el protocolo de la Clínica de Riesgo Pregestacional.
4. Mexicanas por nacimiento.
5. Consentimiento informado por escrito.

Nota: El protocolo de la Clínica de Riesgo Pregestacional incluye: Cariotipo, perfil trombofílico, pruebas de función tiroidea, concentraciones séricas de prolactina, histerosalpingografía, cultivos especiales para *Mycoplasma* y *Ureaplasma*, VIH, TORCH, VDRL.

CONTROLES EXTERNOS

1. Edad 17 a 38 años.
2. Sexo femenino.
3. Sin antecedentes de aborto de repetición.
4. Mexicanas por nacimiento.
5. Consentimiento informado por escrito.

Para cada caso se estudiaron un control y un control externo.

NO-INCLUSIÓN

1. Antecedente de mola o embarazo ectópico como causa de pérdida gestacional.

EXCLUSIÓN

1. No aplican por ser un estudio transversal.

ELIMINACIÓN

1. Muestra inadecuada (hemolizada) o insuficiente (menos de 1 mL de sangre).
2. Fallas técnicas en la realización de la prueba de PCR (degradación de ADN, ausencia de bandas).

VARIABLES EN ESTUDIO.

INDEPENDIENTE (PREDICTORA)

VARIABLE	DEFINICIÓN	TIPO	UNIDAD DE MEDICIÓN
Polimorfismo TNF2 (-308)	Substitución de guanina por adenina en la posición -308	Dicotómica	Ausente: G/G (TNF1) Presente: A/A (homocigoto) o A/G (heterocigoto)

DEPENDIENTE (DESENLACE)

VARIABLE	DEFINICIÓN	TIPO	UNIDAD DE MEDICIÓN
Aborto recurrente	Pérdida de ≥ 2 embarazos consecutivos antes de las 20 semanas de gestación	Dicotómica	Ausente Presente: Con factor identificado y Sin factor identificado

DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

Las pacientes que cumplieron con los criterios se seleccionaron de los servicios de hospitalización de Obstetricia y de la Consulta Externa de la Clínica de Riesgo Pregestacional. En ese momento se les informó sobre el estudio y se les pidió su participación en el mismo y a todas se les solicitó la firma de la carta de consentimiento informado, se revisó el expediente de cada paciente para llenar la hoja de recolección de datos que incluyó datos demográficos, antecedentes ginecológicos y obstétricos, personales patológicos y se realizó la toma de muestra sanguínea de 3 mL en un tubo vacutainer con EDTA para el estudio genotípico de TNF2. La muestra se transportó al Laboratorio de Inmunología de la Torre de Investigación del INPer para la extracción de ADN y su posterior procesamiento, mediante la técnica de PCR descrita a continuación.

a. Extracción de ADN

1. En un tubo de microcentrifugado de 1.5 µl se agregan 900µl de solución de lisis RBC.
2. Se transfiere 300µl de sangre total a la solución de lisis RBC. Se agita vigorosamente invirtiendo los tubos varias veces.

3. Se incuba la solución por 5 minutos a temperatura ambiente, después se centrifuga a 12 000 rpm en una microcentrífuga por 20 segundos para separar los leucocitos.
 4. Se remueve el sobrenadante (decantando o aspirando) sin disolver el botón de leucocitos. Puede quedar un remanente en las paredes del tubo. Este remanente es necesario para resuspender las células antes de la extracción.
 5. Se resuspenden los leucocitos con agitación vigorosa en el sobrenadante residual.
 6. Se agrega 500 µl de solución de extracción para suspender el botón de células. Se agita vigorosamente.
 7. Se incuba la solución por 5 minutos a temperatura ambiente. Durante la incubación, colocar una columna GFX en un tubo colector para cada purificación
- Nota: Precalear la solución buffer a 70 °C
8. Se transfiere la solución de extracción a la columna GFX. Se centrifuga a 8,000 rpm por 1 minuto.
 9. Se vacía el tubo colector y se vuelve a colocar la columna dentro del tubo colector.
 10. Se agrega 500 µl de solución de extracción a la columna GFX. Se centrifuga a 8,000 rpm por 1 minuto.
 11. Se vacía el tubo colector y se vuelve a colocar la columna dentro del tubo colector.
 12. Se agrega 500 µl de solución de lavado a la columna GFX. Se centrifuga a 12,000 rpm por 3 minutos.
 13. Se vacía el tubo colector y se transfiere la columna GFX a un tubo nuevo de microcentrifugado de 1.5 mL.
 14. Se agrega 200 µl de solución buffer precalentada directamente a la matriz de vidrio en la columna GFX.
 15. Se incuba la muestra a temperatura ambiente por 1 minuto.
 16. Se centrifuga a 8,000 rpm por un minuto para obtener el ADN purificado.

b. Amplificación ⁽³³⁾

1. Se utilizó el siguiente *primer* 5'GGAAACAGACCACAGACCTG y el *primer* reverso 5'-TCCTCCCTGCTCCGATTCCG. La PCR se procesó con un volumen final de 25 µL. La solución deberá contener agua estéril 15µL combinado con un volumen igual de 10 mmol/L Tris-HCl que contuvo 1.5 mmol/L MgCl₂; 50 mmol/L KCl; 0.2 mmol/L de

dATP, dCTP, dGTP y TTP; 1.125 unidades de Taq DNA polimerasa y 30 pmol de cada primer.

2. El ciclado se realiza a 95 °C por 2 minutos, después 35 ciclos a 94 °C por 30 segundos, 62 °C por 30 segundos, 72 °C por 30 segundos, y finalmente 72°C por 7 minutos en un Termociclador Express de PCR.

3. Se incubó 15 µl del producto de PCR purificado a 37 °C por toda una noche con 5 unidades de la enzima de restricción NcoI

4. Se visualizó bajo luz ultravioleta posterior a la electroforesis en un gel de agarosa al 3% con bromuro de etidio.

5. Las bandas fueron cortadas del gel y fotografiadas. El genotipo TNF1 mostrará dos bandas a 87 y 20 pares de bases respectivamente; el genotipo TNF2 dará una banda simple de 107 pares de bases en caso de homocigocia (A/A) y tres bandas de 102, 87 y 20 pares de bases en caso de heterocigocia (A/G).^(34, 35) **Figura 1.**

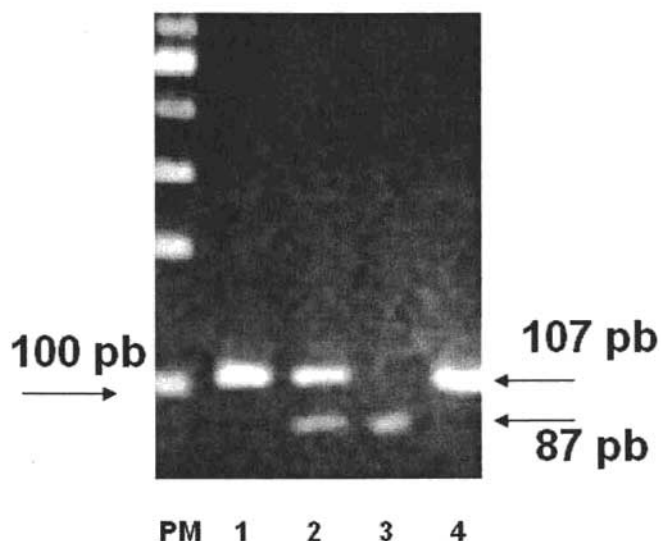


FIGURA 1. Líneas 1 y 4: TNF2 homocigoto; Línea 2: TNF2 heterocigoto; Línea 3: TNF1 homocigoto.

ASPECTOS ÉTICOS

El riesgo de esta investigación se consideró inferior al mínimo, debido a que el procedimiento de venopunción se hizo con técnica de asepsia y antisepsia y el volumen de 3 mL a extraer no afectó hemodinámicamente a las pacientes (adultas).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó el análisis estadístico con la prueba de χ^2 para diferencia de proporciones, de acuerdo a la frecuencia de alelos TNF1 y TNF2 identificados por la prueba de PCR. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con valores de $p < 0.05$.

En el presente estudio se incluyeron 126 pacientes las cuales integraron tres grupos, cada uno conformado por 42 integrantes, los grupos fueron: pacientes con aborto recurrente de Factor no identificado (FNI), pacientes con aborto recurrente con Factor identificado (FI), y pacientes sanas con antecedente de 2 o más embarazos de término (controles). La edad promedio de los casos fue de 30 años (22-39), controles 30.7 años (23-40) y sanas 29.65 años (17-44).

De los 359 embarazos documentados, 143 fueron de FNI, 110 fueron de FI y en el grupo control 106. La edad gestacional al momento del aborto fue de 8.04 semanas en el grupo FNI y 9.6 semanas en FI. En el grupo FNI los tipos de aborto que se presentaron fueron huevo muerto retenido (HMR) 13 (9.1%), embarazo anembrionario 3 (2.1%), muerte fetal temprana (MFT) 1 (0.7%) y aborto espontáneo 126 (88.1%) y en el grupo FI fueron HMR 21 (19.1%), embarazo anembrionario 10 (9.1%), MFT 3 (2.7%) y aborto espontáneo 76 (69.1%).

Los factores identificados en el grupo FI fueron: factor anatómico, 21 pacientes (50%); factor inmunológico, 6 pacientes (14.2%); factor genético, 3 pacientes (7.14%) y factor endocrino-ovárico 12 pacientes (28.6%). Dentro del factor anatómico los diagnósticos realizados fueron: malformación mülleriana en 9 pacientes (42.8%), incompetencia ístmico cervical (IIC) en 5 pacientes (11.9%), miomatosis uterina en 7 pacientes (16.6%). Por lo que se refiere al factor endocrino-ovárico se encontró hipotiroidismo en 4 pacientes (33.3%), hipertiroidismo una paciente (8.3%), hiperprolactinemia en 4 pacientes (33.3%) y resistencia a la insulina en 3 pacientes (25%). Los factores genéticos identificados fueron, una pareja (33.3%), con consanguinidad, una pareja (33.3%), con cariotipo anormal en la madre y una pareja (33.3%), con cariotipo anormal en el padre. Los factores inmunológicos que se identificaron fueron: 3 pacientes (50%) con SAAF primario, una paciente (16.6%) con LES y 2 (33.3%) con SAAF secundario a LES.

El polimorfismo TNF1 en forma homocigoto (TNF1/TNF1) se halló uniformemente distribuido en los diferentes grupos de estudio, 32% en el grupo control, 41% en el grupo FI

y 40% en el grupo FNI. La frecuencia de heterocigoto del alelo TFN2 (TNF1/TNF2) se presentó en 21% de pacientes del grupo control, en 12% del grupo FI y en el grupo FNI el 7% de las pacientes presentó este genotipo. La frecuencia de homocigoto TNF2 (TNF2/TNF2) la presentó 47% de las pacientes del grupo control; el mismo porcentaje se presentó en el grupo FI, mientras que en el grupo FNI este genotipo se presentó en 53% (**Cuadro 1**). Ocho muestras fueron eliminadas por no mostrar bandas, de las cuales 5% fue en los controles, 15% en FI y 25% de FNI, por lo cual no fueron incluidas en el análisis estadístico.

Cuadro 1. Distribución de alelos del polimorfismo de TNF α en los grupos.

GRUPO	TNF1	TNF2	
	TNF1/TNF1	TNF1/TNF2	TNF2/TNF2
CONTROL	6 (32)	4 (21)	9 (47)
FI	7 (41)	2 (12)	8 (47)
FNI	6 (40)	1 (7)	8 (53)
TOTAL	19	7	25

FI: Grupo con aborto recurrente y con factor identificado.

FNI: Grupo con aborto recurrente de factor no identificado.

En cuanto a la presencia de TNF2 (homocigoto y heterocigoto) no se encontró diferencia significativa por la prueba de χ^2 entre aquellas pacientes sin antecedente de aborto recurrente (controles) y aquellas con aborto recurrente de factor identificado (FI): 0.68 versus 0.59; $p=0.55$. Tampoco hubo diferencia al comparar la presencia de TNF2 en pacientes controles con pacientes en las cuales no se identificó un factor responsable (FNI) del aborto recurrente (0.68 versus 0.60; $p=0.6$). No se encontró diferencia significativa en el polimorfismo TNF2 entre los dos grupos de pacientes que presentaron aborto recurrente, FNI vs FI (0.60 versus 0.59; $p=0.95$). En el **Cuadro 2** se muestran los valores utilizados para la prueba.

Cuadro 2. Tablas de contingencia.

	Control	FI	
TNF2	13	10	23
TNF1	6	7	13
	19	17	36

$\chi^2 = 0.36$; $P = 0.55$

	Control	FNI	
TNF2	13	9	22
TNF1	6	6	12
	19	15	34

$\chi^2 = 0.26$; $P = 0.6$

	FNI	FI	
TNF2	9	10	19
TNF1	6	7	13
	15	17	32

$\chi^2 = 0.005$; $P = 0.95$

No se encontraron bandas en 5 de las 20 pacientes con FNI, en 3 de 20 pacientes con FI, y en 1 de 20 pacientes sin antecedente de aborto. Una posible explicación es que esas pacientes tengan otros alelos polimórficos diferentes de TNF1 y TNF2; aunque también deberá tomarse otra muestra sanguínea para intentar de nuevo identificar los alelos, ante la posibilidad de que no hubiese habido una correcta amplificación de los genes correspondientes a los dos alelos estudiados. De cualquier forma, estas pacientes no fueron incluidas en el análisis estadístico.

La respuesta inmune y la producción de citocinas en particular varían de un individuo a otro, debido en parte a la variación genética en la regulación de la expresión de los genes de citocinas. Datos recientes apoyan el hecho de que algunas citocinas favorecen la supervivencia y el crecimiento fetal. En contraste, algunas citocinas proinflamatorias pueden afectar el desarrollo normal del embarazo. Las citocinas producidas por linfocitos Th2 favorecen la sobrevivencia fetal, mientras que las pérdidas gestacionales pueden estar asociadas a una mayor producción de citocinas proinflamatorias por células Th1. ⁽²³⁾

Recientemente se han publicado informes controversiales acerca de la asociación de polimorfismos de citocinas, incluyendo los de TNF α , con aborto recurrente de factor no identificado. ^(23, 36-39) Daher y cols ⁽¹⁵⁾ realizaron un metanálisis con los resultados de estos estudios y observaron una tendencia al incremento de frecuencias de los genotipos A/A y A/G del polimorfismo de TNF α en mujeres con aborto recurrente. En cambio, Prigoshin y cols ⁽⁴⁰⁾ no observaron evidencia de asociación del polimorfismo TNF2 en pacientes con aborto recurrente, comparadas con mujeres sin antecedentes de aborto ($p=0.6$).

Nuestros resultados coinciden con los reportados por Prigoshin y cols, ⁽⁴⁰⁾ ya que observamos que los genotipos de pacientes y controles son similares, tanto para el alelo TNF1 como para el alelo mutado TNF2; por lo que podríamos concluir que el polimorfismo TNF2 no está implicado en el aborto recurrente de factor no identificado.

- No se observó asociación del alelo TNF2 con aborto recurrente de factor no identificado.
- No se observó asociación del alelo TNF2 con aborto recurrente de factor identificado.

ANEXOS

Carta de Consentimiento Informado (Factor no identificado)

Proyecto de Investigación: “Frecuencia del polimorfismo de TNF2 en mujeres con aborto recurrente de factor no identificado”

Yo: _____
(nombre del participante o su representante legal)

Sé que me invitaron a participar en esta investigación porque he perdido varios embarazos y aún no se ha identificado una causa aparente de esto. Entiendo que el proyecto de investigación servirá para identificar si en mi sangre existe una sustancia que podría hacer que pierda mis embarazos. Los beneficios que obtendré no serán inmediatos porque aún faltan muchas investigaciones por hacer. Se me explicó que se realizará una toma de 3 mililitros de sangre por medio de una jeringa estéril, lo cual no causa ningún riesgo para mi salud, después la llevarán al laboratorio de Inmunología de la Torre de investigación de éste Instituto para su estudio.

Es de mi conocimiento que los investigadores me han ofrecido aclarar cualquier duda o contestar cualquier pregunta que al momento de firmar la presente no hubiese expresado, o que surja durante el desarrollo de la investigación. La Dra. Elizabeth Pérez Martínez se ofreció a responder cualquier duda al respecto en el Instituto Nacional de Perinatología con teléfono 55209900 ext. 111 de Lunes a Viernes de las 08:00 a las 14:00 horas. Además me ha ofrecido confidencialidad con la información obtenida.

Declaro libremente que estoy de acuerdo en participar en esta investigación cuyo objetivo, procedimientos, beneficios, y riesgos se me han especificado con anterioridad. Se me ha manifestado que puedo retirar mi consentimiento en cualquier momento, sin que ello signifique que la atención médica que se me proporcione se vea afectada por este hecho al igual que se me ha informado que los gastos que genere el ingreso al protocolo correrán a cargo del Instituto, no así el resto de mi atención médica.

Para los fines que se estime conveniente, firmo la presente junto al investigador que me informó y dos testigos.

México, D. F., a ___ de _____ de 200__.

NOMBRE	FIRMA
Investigador	
Participante	
Representante/Esposo /Domicilio	
Testigo /Parentesco/ Domicilio	
Testigo /Parentesco/ Domicilio	

Carta de Consentimiento Informado (Factor identificado)

Proyecto de Investigación: "Frecuencia del polimorfismo de TNF2 en mujeres con aborto recurrente de factor no identificado"

Yo: _____
(nombre del participante o su representante legal)

Sé que me invitaron a participar en esta investigación porque he perdido varios embarazos y aún cuando se conoce la probable explicación que puede provocarlos, con este estudio se investigará una nueva causa. Entiendo que el proyecto de investigación servirá para identificar si en mi sangre existe una sustancia que podría hacer que pierda mis embarazos. Los beneficios que obtendré no serán inmediatos porque aún faltan muchas investigaciones por hacer. Se me explicó que se realizará una toma de 3 mililitros de sangre por medio de una jeringa estéril, lo cual no causa ningún riesgo para mi salud, después la llevarán al laboratorio de Inmunología de la Torre de investigación de éste Instituto para su estudio.

Es de mi conocimiento que los investigadores me han ofrecido aclarar cualquier duda o contestar cualquier pregunta que al momento de firmar la presente no hubiese expresado, o que surja durante el desarrollo de la investigación. La Dra. Elizabeth Pérez Martínez se ofreció a responder cualquier duda al respecto en el Instituto Nacional de Perinatología con teléfono 55209900 ext. 111 de Lunes a Viernes de las 08:00 a las 14:00 horas. Además me ha ofrecido confidencialidad con la información obtenida.

Declaro libremente que estoy de acuerdo en participar en esta investigación cuyo objetivo, procedimientos, beneficios, y riesgos se me han especificado con anterioridad. Se me ha manifestado que puedo retirar mi consentimiento en cualquier momento, sin que ello signifique que la atención médica que se me proporcione se vea afectada por este hecho al igual que se me ha informado que los gastos que genere el ingreso al protocolo correrán a cargo del Instituto, no así el resto de mi atención médica.

Para los fines que se estime conveniente, firmo la presente junto al investigador que me informó y dos testigos.

México, D. F., a ___ de _____ de 200__.

NOMBRE	FIRMA
Investigador	
Participante	
Representante/Esposo /Domicilio	
Testigo /Parentesco/ Domicilio	
Testigo /Parentesco/ Domicilio	

**Carta de Consentimiento Informado (Pacientes sin antecedente de aborto)
Proyecto de Investigación: “Frecuencia del polimorfismo de TNF2 en mujeres con
aborto recurrente de factor no identificado”**

Yo: _____

(nombre del participante o su representante legal)

Sé que me invitaron a participar en esta investigación porque hay mujeres que han perdido varios embarazos y yo he tenido hijos sanos. Entiendo que el proyecto de investigación servirá para identificar si en mi sangre existe una sustancia que podría hacer que pierda mis embarazos pero también me han explicado que en caso de que exista, la sustancia no ha sido capaz de afectarme. Los beneficios serán principalmente para esas mujeres que han tenido varias pérdidas de embarazos. Se me explicó que se realizará una toma de 3 mililitros de sangre por medio de una jeringa estéril, lo cual no causa ningún riesgo para mi salud, después la llevarán al laboratorio de Inmunología de la Torre de investigación de éste Instituto para su estudio.

Es de mi conocimiento que los investigadores me han ofrecido aclarar cualquier duda o contestar cualquier pregunta que al momento de firmar la presente no hubiese expresado, o que surja durante el desarrollo de la investigación. La Dra. Elizabeth Pérez Martínez se ofreció a responder cualquier duda al respecto en el Instituto Nacional de Perinatología con teléfono 55209900 ext. 111 de Lunes a Viernes de las 08:00 a las 14:00 horas. Además me ha ofrecido confidencialidad con la información obtenida.

Declaro libremente que estoy de acuerdo en participar en esta investigación cuyo objetivo, procedimientos, beneficios, y riesgos se me han especificado con anterioridad.

Se me ha manifestado que puedo retirar mi consentimiento en cualquier momento, sin que ello signifique que la atención médica que se me proporcione se vea afectada por este hecho al igual que se me ha informado que los gastos que genere el ingreso al protocolo correrán a cargo del Instituto, no así el resto de mi atención médica.

Para los fines que se estime conveniente, firmo la presente junto al investigador que me informó y dos testigos.

México, D. F., a ___ de _____ de 200__.

NOMBRE	FIRMA
Investigador	
Participante	
Representante/Esposo /Domicilio	
Testigo /Parentesco/ Domicilio	
Testigo /Parentesco/ Domicilio	

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA
CLINICA DE RIESGO PREGESTACIONAL
HOJA DE COLECCIÓN DE DATOS

Nombre: _____ Registro: _____
 Edad: _____ Edo. Civil: _____
 Escolaridad: _____ Origen: _____
 Residencia: _____ Ocupación: _____

Religión:

G: P: A: C: E: M:

AGO:

M: C: IVSA: PS: PAP: MPF:

PS:

	SDG	Diagnóstico	Resolución	Complicaciones	V/S
1.					
2.					
3.					
4.					

APP:

Factor anatómico:

Factor inmunológico:

Factor infeccioso:

Factor endócrino ovárico:

Factor genético:

Polimorfismo:

SI NO

1. Maymon E, Ghezzi F, et al. The tumor necrosis factor alpha and its soluble receptor profile in term and preterm parturition. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181:1142-8.
2. Graphpou O, Chioti A, Pantazi A, Tsekoura C, et al. Effect of intravenous immunoglobulin treatment on the Th1/Th2 balance in women with recurrent spontaneous abortions. *Am J Repr Immunol* 2003; 49:21-9.
3. Carp H, Torchinsky A, Fein A, Toder V. Hormones, cytokines and fetal anomalies in habitual abortion. *Gynecol Endocrinol* 2001; 15:472-83.
4. Hogge WA, Byrnes AL, Lanasa MC, Surti U. The clinical use of karyotyping spontaneous abortions. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 18:397-400.
5. Pérdida gestacional en Normas y Procedimientos de ginecología y obstetricia 2002. INPer. 111-26.
6. Yamada H, Polgar K, Hill JA. Cell-mediated immunity to trophoblast antigens in women with recurrent spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170:1339-44.
7. Proctor JA, Haney AF. Recurrent first trimester pregnancy loss is associated with uterine septum but not with bicornuate uterus. *Fertil Steril* 2003; 80:1212-5.
8. Raga BD, Remohi JF, Bonilla-Musoles F, Simon C, Pellicer A. Reproductive impact of congenital Mullerian anomalies. *Hum Reprod* 1997; 12:2277-81.
9. Li TC, Makris M, Tomsu M, Tuckerman E, Laird S. Recurrent miscarriage : aetiology, management and prognosis. *Hum Reprod Update* 2002; 8:463-81.
10. Propst AM, Hil JA. Anatomic factors associated with recurrent pregnancy loss. *Sem Reprod Med* 2000; 18:341-50.
11. Berman J, Girardi G, Salmon JE. TNF- α is a critical effector and a target for therapy in antiphospholipid antibody-induced pregnancy loss. *J Immunol* 2005; 174:485-90.
12. Carp HJ. Antiphospholipid syndrome in pregnancy. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2004; 16:129-35.
13. Hill JA, Polgar KA, Anderson DJ. T-helper 1-type immunity to trophoblast in women with recurrent spontaneous abortion. *JAMA* 1999; 273: 1933-6.

14. Serra HS, Mariani AL. Quimiocinas ¿por qué vale la pena conocerlas? Archivos de alergia e inmunología clínica 2001; 32:7-10
15. Yamada H, Polgar K, Hill JA. Cell-mediated immunity to trophoblast antigens in women with recurrent spontaneous abortion. Am J Obstet Gynecol 1994; 170:1339-44.
16. Daher S, Shulzelnko N, Rosiane MM, Rampim GF, Camano L, Gerbase DM. Associations between cytokine gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss. J Repr Immunol 2003; 58:69-77.
17. Ho H, Chao KH, Chen HF, Chen SU, We MY, Yang YS. Distribution of Th1 and Th2 cell populations in human peripheral and decidual T cells from normal and anembryonic pregnancies. Fert Ster 2001; 76:797-803.
18. Kwak- Kim, Chung-Bang HS, et al. Increased T hepler 1 cytokine responses by circulating T cells are present in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with múltiple implantation failures after IVE. Hum Reprod 2003; 18:767-73.
19. Karhukorpi J, Laitinen T, Kivela H, Tiilikainen A, Hurme M. IL-1 receptor antagonist gene polymorphism in recurrent spontaneous abortion. J Repr Immunol 2003; 58:61-71.
20. Siu Chui NG, Gilman-Sachs A, Thaker P, Beamean K, Beer A, Kwak-Kim, J. Expression of intracellular Th1 and Th2 cytokines in women with recurrent sopontaneous abortion, implantion failures after IVF/ET or normal pregnancy. Am J Reprod Immunol 2002; 48:77-86.
21. Lea RG, Tulppala M, Critchley HOD. Deficient syncytiotrophoblast tumour necrosis factor alfa characterizes failing first trimester pregnancies in a subgroup of recurrent miscarriage patients. Hum Repr 1997; 12:1313-20.
22. Maymon E, Ghezzi F, et al. The tumor necrosis factor alpha and its soluble receptor profile in term and preterm parturition. Am J Obstet Gynecol. 1999; 181:1142-8.
23. Babbage SF, Arkwright GS, Vince DP, Pravica V, Quenby S, Bates M, Hutchinson IV. Cytokine promoter gene polymorphisms and idiopathic recurrent pregnancy loss. J Repr Immunol 2001; 51:21-7.

24. Monzón-Bordonaba F, Vadillo-Ortega F, Feinberg RF. Modulation of trophoblast function by tumor necrosis factor- α : A role in pregnancy establishment and maintenance? *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187:1575-80.
25. Daher S, Fonseca F, Ribeiro OG, Musatti CC, Gerbase-De Lima M. Tumor necrosis factor during pregnancy and at the onset of labor and spontaneous abortion. *Eur J Obstet Gynec* 1999; 83:77-9.
26. Garcia-Lloret MI, Winkler-Lowen B, Guillbert LJ. Monocytes adhering by LFA-1 to placental syncytiotrophoblasts induce local apoptosis via release of TNF α : a model for hematogenous initiation of placental inflammations. *J Leukocyte Biol* 2000; 68:903.
27. Daher S, Shulzhenko N, Rosiane MM, Rampim GF, Camano L, Gerbase DM. Associations between cytokine gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss. *J Repr Immunol* 2003; 58:69-77.
28. Majestaschak M, Obertacke U, Schade UF, Bardenheuer M, Voggenreiter G, Brunhilde Bloemeke et al. Tumor Necrosis Factor Gene Polymorphisms, Leukocyte Function, and Sepsis Susceptibility in Blunt Trauma Patients. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2002; 9:1205-11.
29. Endres LK, Wang EY. Relationship between tumor necrosis factor- α genotype and success of emergent cerclage. *Am J Perinatol* 2003; 20:109-13.
30. Costeas PA, Koumouli A, Giantsiou-Kyriakou A, Papaloizou A, Koumas L. Th2/Th3 cytokine genotypes are associated with pregnancy loss. *Hum Immunol* 2004; 65:135-41.
31. Proctor JA, Haney AF. Recurrent first trimester pregnancy loss is associated with uterine septum but not with bicornuate uterus. *Fertil Steril* 2003; 80:1212-5.
32. Propst AM, Hil JA. Anatomic factors associated with recurrent pregnancy loss. *Sem Reprod Med* 2000; 18:341-50.
33. Peters DL, Barber RC, Flood EM, Garner HR, O'Keefe GE. Methodologic quality and genotyping reproducibility in studies of tumor necrosis factor -308 G-A single nucleotide polymorphism and bacterial sepsis: Implications for studies of complex traits. *Crit Care Med* 2003; 91:1691-6.
34. Kalish RB, Vardhana SA, Gupta M, Perni SC, Chasen ST, Witkin SS. Polymorphisms in the tumor necrosis factor- α gene at position -308 and the inducible 70 kd heat shock

- protein gene at position +1267 in multifetal pregnancies and preterm premature rupture of fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191:1368-74.
35. Zhang DL, Li JS, Jiang ZW, Yu BJ, Tang XM, Zens HM. Association of two polymorphisms of tumor necrosis factor gene with acute biliary pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2003; 9:824-8.
36. Baxter N, Sumylyla A, Cheng S, Erlich H, Regan L, Simons A, Summerfield JA. Recurrent miscarriage and variant alleles of mannose binding lectin, tumour necrosis factor and lymphotoxin alpha genes. *Clin Exp Immunol* 2001; 126:529-34.
37. Reid JG, Simpson NA, Walker RG, Economidou O, Shillito J, Gooi HC, Duffy SR, Walker JJ. The carriage of pro-inflammatory cytokine gene polymorphisms in recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 2001; 45:35-40.
38. Karhukorpi J, Laitinen T, Karttunen R, Tiilikainen AS. The functionally important IL-10 promoter polymorphism (-1082G -A) is not a major genetic regulator in recurrent spontaneous abortions. *Mol Hum Reprod* 2001; 7:201-3.
39. Daher S, Shulzhenko N, Morgun A, Mattar R, Rampin GF, Camano L, De Lima MG. Associations between cytokine gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss. *J Reprod Immunol* 2003; 58:69-77.
40. Prigoshin N, Tambutti M, Larriba J, Gogorza S, Testa R. Cytokine gene polymorphisms in recurrent pregnancy loss of unknown cause. *Am J Reprod Immunol* 2004; 52:36-41.