

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**Instituto Nacional de Perinatología
Isidro Espinosa de los Reyes
Subdirección de Ginecología y Obstetricia**

**Caracterización de un Perfil Bioquímico de
Citocinas Proinflamatorias en el Desarrollo
del Parto Pretérmino.**

Tesis

**Que para obtener el título de
Especialista en Ginecología y Obstetricia**

PRESENTA

DR. GERARDO BUENDÍA DÍAZ

**DR. VALENTÍN IBARRA CHAVARRIA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN
DIRECTOR MÉDICO**

**DR. FELIPE VADILLO ORTEGA
DIRECTOR DE TESIS
DIRECTOR DE INVESTIGACIÓN**



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.

DEDICATORIA

El trabajo que tienen el día de hoy frente a ustedes, no hubiera sido posible realizarlo sin el aliento de personas que han estado a mi lado de manera incondicional. A ellos dedico esta obra que marca el final de una etapa muy importante en mi vida y el comienzo de una nueva:

- A mi esposa Rosenia por su apoyo en cada momento de mi vida personal y profesional. Gracias a este apoyo es posible concluir un proyecto personal de vida.
- A mi hija Daniela, por ser el más grande amor en mi vida, que me alienta a seguir adelante en cada proyecto que emprendo.
- A mis Padres Marta y Gerardo, por haberme proveído de una educación sólida, que me ha permitido desenvolverme profesionalmente. A ellos y a mi hermano Emilio, les agradezco infinitamente su apoyo en los momentos más difíciles de mi vida, aunque no estuvieran de acuerdo con las decisiones tomadas.

RECONOCIMIENTOS.

Extiendo un formal reconocimiento a todas las personas que estuvieron involucradas de una u otra manera, en la realización del presente trabajo y sin las cuales no hubiera sido posible su realización. A todas ellas, le extiendo mi más profundo agradecimiento:

- A mi tutor de tesis, Dr. Felipe Vadillo Ortega. Gracias por el tiempo invertido en mi persona desde las fases iniciales de mi formación como Médico Cirujano, por la oportunidad de realizar bajo su tutoría el servicio social en investigación y finalmente por aceptar dirigir este trabajo. Gracias por compartir conmigo su amistad, conocimientos y consejos que espero algún día retribuir.
- A los Médicos del Instituto Nacional de Perinatología, quienes durante mi formación tuvieron la disposición y paciencia para encaminar las inquietudes de un joven médico hacia metas bien definidas en mi formación como especialista.
- Al personal adscrito al laboratorio de la Dirección de Investigación, quienes con su valiosa ayuda hicieron posible el correcto procesamiento de las muestras. Gracias Aurora, Arturo y Noemí.
- Al personal de enfermería del servicio de Urgencias, principalmente turnos matutino y vespertino, quienes siempre mostraron gran disposición y estuvieron atentas a las necesidades de su servidor, para la captura de pacientes y la toma de muestras.
- Al personal de enfermería del servicio de Consulta Externa, en el turno Vespertino (Preguardia).
- A las pacientes del Instituto Nacional de Perinatología. Gracias por permitirnos atenderlas y aprender de ustedes.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	1
Fisiología del Trabajo de Parto	2
Preparación para el trabajo de parto	2
Fisiología de la contracción uterina	3
Trabajo de Parto Pretérmino	5
Clasificación	6
Hallazgos Clínicos	6
Respuesta Inflamatoria en Parto Pretérmino	7
Citocinas proinflamatorias	7
Factor de Necrosis Tumoral (TNF- α)	7
Interleucina 1 (IL-1)	9
Interleucina 6 (IL-6)	11
Interleucina 2 (IL-2)	11
Trabajo de parto como proceso inflamatorio	12
Participación del proceso infección – inflamación en parto pretermino	13
Similitudes y diferencias entre el trabajo de parto a término y el pretérmino	15
Teorías de un modelo de inicio de trabajo de parto	17
Justificación	18
Objetivo	18
Hipótesis	18
MATERIAL Y MÉTODOS	19
Tipo de Diseño	19
Características del Estudio	19
Universo, Lugar y Duración	19
Criterios de Inclusión, Exclusión y Eliminación	19
Variables en Estudio	20
Definiciones Operativas	21
Métodos Analíticos	22
Análisis Estadístico	24
Aspectos Éticos	25
RESULTADOS	26
DISCUSIÓN	34
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

RESUMEN

Actualmente se calcula que más de 50 millones de mujeres sufren alguna complicación durante el embarazo, entre ellas el desarrollo de parto pretérmino. Aunque no contamos con estadísticas nacionales precisas, el parto pretérmino complica al menos 12% de todos los embarazos en nuestro país y sus consecuencias, lo hacen el servicio más caro en el ámbito de atención a la salud. El presente trabajo tuvo como objetivo caracterizar la expresión de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-2) involucradas en los mecanismos de inducción y activación del trabajo de parto humano. El estudio se desarrolló en el Instituto Nacional de Perinatología durante un periodo de 2 años, en los cuales se reclutaron 157 pacientes entre las mujeres que acudieron a control prenatal. Las pacientes se clasificaron dentro de alguno de 4 estadios clínicos posibles (sin actividad uterina, con trabajo de parto a término, con amenaza de parto pretérmino y con ruptura prematura de membranas pretérmino) y se tomó muestra de la secreción presente en el fondo de saco posterior de la vagina. La muestra fue analizada para la detección de citocinas mediante un sistema de micro arreglo soluble. Los resultados obtenidos de las concentraciones por citocina y por grupo son: IL-1 β grupo 1 (500 ng/ml), grupo 2 (1000 ng/ml), grupo 3 (1250 ng/ml), grupo 4 (500 ng/ml). TNF- α grupo 1 (150 ng/ml), grupo 2 (225 ng/ml), grupo 3 (275 ng/ml), grupo 4 (160 ng/ml). IL-6 grupo 1 (casi nula), grupo 2 (550 ng/ml), grupo 3 (casi nula pero mayor al grupo 1), grupo 4 (250 ng/ml). IL-2 grupo 1 (0.6 ng/ml), grupo 2 (1.25 ng/ml), grupo 3 (1.0 ng/ml), grupo 4 (0.5 ng/ml). Las asociaciones estadísticamente significativas por citocinas fueron: IL-1 β grupo 2 vs. 1 y 4. TNF- α grupo 1 vs. 2 y 3; grupo 3 vs. 4. IL-6 grupo 4 vs. 1 y 3. IL-2 grupo 1 vs. 2 y 3; grupo 4 vs. 2 y 3. Las conclusiones son que en las pacientes con amenaza de parto pretérmino, existe elevación de las citocinas proinflamatorias IL-1 β , TNF- α , IL-6 e IL-2, con respecto a las pacientes que no presentan actividad uterina, y que la elevación encontrada únicamente es estadísticamente significativa en el caso de TNF- α e IL-2.

ABSTRACT

At present, more than 50 million women worldwide suffer some kind of adverse outcome during the course of pregnancy, including the development of preterm labor. Although there is not precise national statistics on this matter, preterm labor complicates at least 12% of all pregnancies in our country and the consequences derived from this pathologic event, makes it one of the most expensive issues in obstetrics and pediatrics healthcare services. The objective of the current study was to characterize the expression of proinflammatory cytokines (IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-2) involved in mechanisms of induction and activation of human labor. It was developed over a 2 year-period in the National Institute of Perinatology, during which 157 patient were recruited among pregnant women attending for prenatal control. Patients were classified into 1 of 4 possible clinical groups (without uterine activity, term labor, preterm labor, and preterm premature rupture of membranes) and a sample of the secretion present at the posterior vaginal sac was taken. Sample was analyzed for the detection of cytokines by means of a soluble micro array. Results for cytokine concentrations by clinical group are: IL-1 β group 1 (500 ng/ml), group 2 (1000 ng/ml), group 3 (1250 ng/ml), group 4 (500 ng/ml). TNF- α group 1 (150 ng/ml), group 2 (225 ng/ml), group 3 (275 ng/ml), group 4 (160 ng/ml). IL-6 group 1 (almost absent), group 2 (550 ng/ml), group 3 (almost absent but greater than group 1), group 4 (250 ng/ml). IL-2 group 1 (0.6 ng/ml), group 2 (1.25 ng/ml), group 3 (1.0 ng/ml), group 4 (0.5 ng/ml). Differences in cytokine concentration by group, statistically significant were: IL-1 β group 2 vs. 1 and 4. TNF- α group 1 vs. 2 and 3; group 3 vs. 4. IL-6 group 4 vs. 1 and 3. IL-2 group 1 vs. 2 and 3; group 4 vs. 2 and 3. We conclude that patients with preterm labor experience an elevation in proinflammatory cytokines (IL-1 β , TNF- α , IL-6 and IL-2), in comparison to patients who do not present uterine activity; and that the difference encountered is statistically significant only for TNF- α and IL-2.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN.

El poder lograr un embarazo a término sin complicaciones, así como el entregar un neonato sano a una madre sana, es consecuencia de un buen control prenatal y de una adecuada atención médica durante el parto y el puerperio. Actualmente existe una gran discrepancia entre las mujeres del mundo, en la capacidad que tienen de acceder a los cuidados médicos maternos. Las causas son en su mayoría de índole económica (mujeres de países desarrollados o en vías de desarrollo, ricas o pobres, de medio rural o urbano, de alto o bajo nivel educativo). Al comparar la situación que enfrentan mujeres de países en vías de desarrollo con mujeres de países desarrollados, las cifras son alarmantes: Se calcula que el 35% de las mujeres de países en vías de desarrollo no poseen cuidados prenatales, que cerca del 50% no cuentan con una atención adecuada durante el parto y 70% no tienen cuidados médicos postparto. En cambio en los países desarrollados, los cuidados de salud materna son casi universales: 97% de sus mujeres cuentan por lo menos con una visita prenatal, 99% son asistidas durante el parto por personal capacitado y 90% tienen por lo menos una visita de control durante el puerperio. Esta situación puede explicar el que en los países en vías de desarrollo, las complicaciones durante el trabajo de parto, nacimiento y puerperio son más frecuentes: 50% de las muertes postparto ocurren durante el puerperio inmediato y 70% en los primeros siete días (puerperio mediato). A nivel mundial cada día mueren como mínimo 1600 mujeres relacionadas con el embarazo y el parto, lo cual representa como mínimo 585 000 muertes anuales y la mayoría de estas muertes ocurren en países en vías de desarrollo, como resultado de complicaciones del embarazo o el parto (1).

Y si se trata de morbilidad materna, ya sea a corto o largo plazo, las cifras no son menos alarmantes: Se cree que más de 50 millones de mujeres sufren alguna complicación del embarazo y que por lo menos 18 millones de estas mujeres tendrán alguna limitante a largo plazo. En este contexto es necesario enfatizar: 50% de todas las muertes perinatales están ocasionadas por un inadecuado control prenatal y de la atención del parto. Es por ello que como consecuencia de un deficiente servicio de salud para las madres, cada año mueren alrededor de 8 millones de neonatos (1).

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 ésta situación (2). Las condiciones que lo hacen relevante, son la frecuencia con 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 el ámbito de atención a la salud (3). 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 del embarazo. Desgraciadamente, ningún marcador ha mostrado tener utilidad general y la prevalencia mundial del parto pretérmino permanece sin ser modificada desde hace 40 años. 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 (1, 2, 3)

FISIOLOGÍA DEL TRABAJO DE PARTO.

Preparación para el Trabajo de Parto.

El útero es una estructura con forma de pera invertida, compuesto de una cavidad endometrial rodeada de músculo liso (miometrio), el cual se organiza en fibras que viajan en múltiples direcciones alrededor de la cavidad central y esta recubierto de una serosa de peritoneo. Las fibras musculares se encuentran sostenidas por una matriz de tejido conectivo compuesto de colágena y proteoglicanos, que se acumulan preferentemente en el cérvix. El fondo y el cuerpo del útero tienen una estructura fundamentalmente muscular, mientras que el cérvix es una estructura colágeno-fibrosa con solo 10 % de fibras musculares (4).

Los cambios que el útero manifiesta durante el embarazo incluyen hipertrofia e hiperplasia de las células miometriales. El útero no gestante pesa aproximadamente 10 gramos, mientras que el útero grávido a término vacío pesa aproximadamente 1000 gramos. Los miocitos uterinos aumentan 10 veces su longitud y unas 4 - 5 veces su espesor; sin embargo, la cantidad de actina y miosina por miligramo de proteína celular no aumenta en relación al útero no gestante (4).

Los cambios que experimenta el cérvix durante la gestación son llamativos. Clínicamente existe cambio de color cervical provocado por una mayor vascularización del mismo, se reblandece debido al acumulo de agua en su matriz extracelular, y disminuye en tamaño y grosor para convertirse en un anillo dilatante por la presión de las membranas amnióticas o la presentación fetal. Microscópicamente se ha demostrado que desde las 8 semanas de gestación, existe dispersión y pérdida progresiva en la polimerización de las fibras de colágena, motivo por lo cual se aprecian más cortas y menos densas. Al iniciarse el trabajo de parto, aumenta la actividad colagenolítica mediada por unas proteínas denominadas Metaloproteasas de Matriz Extracelular (MMP-2 y 9), provocando que el cérvix pierda gran cantidad de colágeno polimerizado y se incremente el soluble (5).

Esta serie de cambios agrupados bajo el término “maduración cervical”, se deben a la infiltración leucocitaria que ocurre en el cérvix, por lo que se ha postulado a este proceso como parte de un fenómeno inflamatorio propio del trabajo de parto. En el resto del útero conforme avanza el trabajo de parto, ocurre incremento de MMP-8, MMP-9 y descenso del TIMP-1. Estos dos procesos se encuentran en sincronía y los responsables de que ocurran son las prostaglandinas y las citocinas proinflamatorias. La prostaglandina E2 altera la síntesis de colágeno por los fibroblastos, lo cual desestabiliza las fibras y el tejido conectivo se vuelve más blando y elástico. A su vez, las citocinas proinflamatorias IL-1 β y TNF- α incrementan la producción de MMP-8 y 9 en el miometrio (5).

Fisiología de la Contracción Uterina.

Para poder comprender el fenómeno fisiopatológico del trabajo de parto pretérmino, es necesario revisar las bases fisiológicas que nos permiten entender el mecanismo por el cual el útero se contrae. La contracción uterina es el evento que nos permite identificar que el trabajo de parto se está generando o en su defecto que ya está establecido, dependiendo de las características de la misma. A pesar de no contar con una definición precisa del término, se ha aceptado en la literatura internacional el determinar que el trabajo de parto se inicia cuando la actividad uterina es suficiente en frecuencia, intensidad y duración, lo cual lleva al borramiento y dilatación cervical. Para que esto ocurra es necesaria la interacción de múltiples factores que tienen como expresión final la contracción de la miofibrilla (4).

El miometrio es un músculo liso fásico con ciclos de contracción y relajación rápida. La contracción del miometrio, desde el punto de vista mecánico, se debe al desplazamiento de la miosina a lo largo de los filamentos de actina. Para ello, las moléculas de miosina conforman un hexámero consistente en dos cadenas pesadas (200 kD) y cuatro cadenas ligeras (17-20 kD), con una región enzimática entre ellas capaz de hidrolisar ATP. Para que ocurra la contracción del miocito, la miosina debe ser fosforilada en la cadena ligera de 20 kD, mediante una enzima denominada Quinasa de la Cadena Ligera de Miosina (QCLM), la cual se activa ante concentraciones elevadas de calcio intracelular, gracias a la formación de complejos Calcio-Calmodulina. Al disminuir el calcio intracelular la QCLM se inactiva y la Miosina de Cadena Ligera es desfosforilada por la enzima Miosin-Fosfatasa (5, 6).

En el miometrio existe una excelente correlación entre las concentraciones intracelulares de calcio y la fuerza desarrollada por el tejido. Es por ello, que los mecanismos responsables de la homeostasis del calcio son de suma importancia para la regulación de la actividad uterina.

Para que ocurra una contracción uterina es necesario que las concentraciones de calcio citoplasmático aumenten por arriba de 1.0 micromol (1). La concentración intracelular de calcio depende de dos factores:

- 1) La entrada desde el espacio extracelular.
- 2) La liberación desde su almacenaje intracelular: El retículo sarcoplásmico (RS)

La entrada de calcio a la célula desde el espacio intersticial, ocurre a través de canales de calcio dependientes de Voltaje (CV) y de Receptores Membranales que actúan como canales. La liberación de calcio del RS al citosol, se debe también a receptores membranales que actúan como canales y que tienen como ligando al Inositol 3-Fosfato (IP3) (6, 7).

Para que pueda ocurrir la relajación de las fibras musculares uterinas, la concentración de calcio intracelular debe ser menor a 0.1 micromol (1). Esta disminución ocurre como consecuencia de la salida de dicho ion a través de los canales de calcio transmembrana y mediante el secuestro al interior del retículo sarcoplásmico. Existen 2 mecanismos principales para la expulsión de calcio de la célula, los cuales se localizan a nivel de la membrana celular y son:

- 1) Calcio – ATPasa Membranal (CAM)
- 2) Cotransportador Sodio / Calcio

Por otra parte, el secuestro de calcio al interior del RS requiere la activación de unas bombas especiales presentes en este organelo, denominadas Calcio – ATPasa del Retículo Sarcoplásmico (CARS) (6, 7).

Es importante establecer, que la regulación del calcio intracelular se encuentra modulada por la presencia de dos segundos mensajeros en el interior del citoplasma del miocito uterino: El adenosinmonofosfato cíclico (AMPc) y el inositoltrifosfato (IP3). Las acciones de estos segundos mensajeros se oponen: mientras que el aumento en las concentraciones intracitoplásmicas del AMPc favorece la relajación de las fibras musculares, el aumento de IP3 favorece su contracción. La producción de estos segundos mensajeros se debe a la activación de receptores membranales (6).

La propagación de los potenciales de acción entre las células de músculo liso uterino, a partir de marcapasos presentes en el útero, ocurre gracias a la existencia de uniones de baja resistencia eléctrica, integradas por proteínas denominadas “conexinas”. Las conexinas se organizan en placas formando puentes de unión (*gap junctions*), que no solo participan en la propagación del potencial de acción, sino también en el movimiento de metabolitos específicos entre los miocitos uterinos. Los puentes de unión aumentan durante el parto y

su formación esta regulada por factores hormonales (La progesterona inhibe dicha formación y los estrógenos la estimulan a través del aumento en la síntesis de conexinas). Los puentes de unión permiten el paso únicamente de pequeñas moléculas: el límite del diámetro molecular oscila entre 1.6 y 2.0 nanomolas, equivalente a moléculas de aproximadamente 1000 daltons de peso (iones mono y bivalentes, péptidos pequeños, IF3 y AMPc). Moléculas grandes como las proteínas se ven imposibilitadas de fluir a través de estos canales (1, 4).

TRABAJO DE PARTO PRETERMINO (8).

El trabajo de parto se define como aquel proceso en el que ocurren contracciones uterinas de manera coordinada y que conllevan a la dilatación y borramiento cervicales progresivos, por medio de los cuales ocurre la expulsión del feto y la placenta. Cuando este proceso ocurre entre las 20 y 37 semanas de gestación, se denomina Trabajo de Parto Pretérmino.

Actualmente no existe una definición precisa que indique el número de contracciones necesarias para definir el trabajo de parto pretérmino, sin embargo existe consenso internacional en que las contracciones deben ser regulares en frecuencia e intensidad, y deben estar asociadas a la presencia demostrada de modificaciones cervicales (dilatación y/o borramiento). Las contracciones pueden no ser dolorosas y percibirse como endurecimiento abdominal, dolor lumbar, o sensación de presión en la zona pélvica (pesantez pélvica). En general se acepta que la presencia de 4 o más contracciones en una hora son capaces de provocar cambios cervicales.

El parto pretérmino complica aproximadamente 10 - 15 % de los embarazos en Norteamérica. Constituye la primera causa de morbi-mortalidad neonatal, siendo la causante del 75 - 80 % de todas las muertes neonatales no asociadas a anomalías congénitas. El 13 % de todos los recién nacidos en E.U. son clasificados con bajo peso al nacimiento (menor de 2500 gramos), y de ellos solo el 10 % son realmente prematuros. Es este último grupo, el que constituye aproximadamente 60 % de las muertes infantiles que ocurren cada año en E.U., las cuales se estiman en 25,000.

Clasificación.

La parto pretérmino puede ser clasificada según el resultado anómalo del proceso reproductivo iniciado por alguna de estas situaciones (9):

- a) Espontáneo o Idiomático: Corresponde al 50% de los casos.
- b) Secundario a Ruptura Prematura de Membranas: Corresponde al 25 % de los casos.

c) Iatrógeno: Corresponde al 25 % de los casos. Algunas enfermedades maternas y fetales como la preeclampsia, el retardo en el crecimiento intrauterino, sufrimiento fetal, enfermedades crónicas maternas) hacen necesaria la interrupción del embarazo antes de llegar a término.

Lumley propone una clasificación de la prematuridad en base a la maduración fetal respecto a las semanas de gestación, con categorías que reflejan importantes diferencias en la supervivencia, en las expectativas de salud a mediano y largo plazo y en el consumo de recursos sanitarios. Las categorías propuestas son (10):

- a) Prematuridad Extrema: 20 – 27 semanas de gestación.
- b) Prematuridad Moderada: 28 – 31 semanas de gestación.
- c) Prematuridad Leve: 32 – 36 semanas de gestación.

Hallazgos clínicos (8).

a) Actividad Uterina: Es la presencia de contracciones uterinas regulares en frecuencia e intensidad, ya sea documentadas mediante registro cardiotocográfico o por palpación. La presencia de 4 o más contracciones en 1 hora son capaces de provocar dilatación y/o borramiento cervicales.

b) Modificaciones Cervicales: Constituyen los cambios en el cérvix provocados por la presencia de contracciones uterinas regulares y son la dilatación y el borramiento. La presencia de un cérvix borrado y con al menos 2 cm. de dilatación al ingreso de la paciente se considera diagnóstico.

c) Expulsión de Tapón Mucoso: Constituye la salida de moco cervical teñido con sangre, a través de la vagina. Es indicativo que está ocurriendo dilatación cervical.

RESPUESTA INFLAMATORIA EN PARTO PRETERMINO.

Citocinas Proinflamatorias (11).

La defensa frente a microorganismos extraños como virus y bacterias, está mediada por una inmunidad natural y una inmunidad específica. Las fases efectoras de ambas, se encuentran mediadas en gran parte por proteínas llamadas citocinas, las cuales son producidas por fagocitos mononucleares y linfocitos, con la finalidad de regular la proliferación y diferenciación de varias poblaciones linfocitarias, o para activar y regular las células inflamatorias.

Las citocinas son responsables de la comunicación entre las células de los sistemas inmunitarios e inflamatorios. Su secreción es breve y autolimitada. Son producidas por distintos tipos de células y actúan sobre diferentes tipos de células, teniendo a menudo múltiples efectos diferentes sobre una misma célula diana. Sus acciones pueden ser redundantes e influyen en la síntesis de otras proteínas produciendo cascadas en las que una segunda o tercera citocina puede mediar los efectos biológicos de la primera. En otras ocasiones, pueden antagonizar sus efectos o producir efectos aditivos creando resultados mayores a lo previsto o incluso distintos. Su acción la realizan al unirse a receptores específicos en la superficie de la célula diana teniendo efectos autocrinos, paracrinos o endocrinos. La expresión de dichos receptores a su vez se encuentra regulada por señales específicas.

Factor de Necrosis Tumoral (TNF- α).

Esta citocina es el principal mediador de la respuesta del huésped frente a las bacterias gram negativas. Existen dos tipos, denominados alfa y beta. Esta última es también conocida como Linfotóxina (LT). Los componentes activos de las bacterias gram negativas son las moléculas de Lipopolisacárido (LPS) también conocida como endotoxina, la cual se libera de la pared celular de la bacteria. El TNF se denominó con este nombre debido a que se identificó como mediador de la necrosis tumoral presente en el suero de animales tratados con LPS.

La principal fuente celular de esta citocina es el macrófago, aunque también lo produce el linfocito, la célula NK y el mastocito. El interferón gama (INF- γ) producido en el linfocito T aumenta la síntesis de TNF- α en el macrófago. La citocina se sintetiza inicialmente como una proteína transmembranosa no glucosilada de 25 kD, con el extremo aminoterminal en la parte intracelular, y el carboxiterminal en la parte extracelular. La forma secretada circula como un homo trímero de 51 kD. Los lugares de unión al receptor están en la base, permitiendo su unión simultánea a más de un receptor. Existen dos tipos de receptores diferentes para el TNF- α , uno de 55 y otro de 75 kD. La afinidad de la citocina a sus receptores es baja; sin embargo, se sintetiza en grandes cantidades saturando fácilmente sus receptores, los cuales están en casi todos los tipos celulares. Una vez activada la célula diana, esta se desprende de receptores de TNF- α , los cuales son solubles en el plasma. Las respuestas celulares al TNF- α implican una tasa de transcripción génica aumentada mediante la activación de factores de transcripción NF- κ B o AP-1.

A concentraciones bajas el TNF actúa localmente como regulador autocrino y paracrino de los leucocitos y de las células endoteliales. Las acciones principales del TNF- α a concentraciones bajas son críticas para la repuesta inflamatoria frente a los microorganismos. Estas acciones comprenden:

a) Expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales, haciendo el endotelio adherente a neutrófilos, monocitos y linfocitos; contribuyendo por lo tanto a la acumulación de leucocitos en los sitios de inflamación.

b) Activa los leucocitos (neutrófilos, eosinófilos y monocitos) para que maten microorganismos.

c) Estimula a los monocitos a producir IL-1, IL-6 y TNF- α .

d) Aumenta la expresión de moléculas de clase 1 del Complejo Mayor de Histocompatibilidad potenciando la lisis de las células infectadas por virus.

Con estímulos antigénicos más potentes, se producen mayores cantidades de TNF- α provocándose acciones sistémicas que comprenden:

a) Producción de fiebre, ya que actúa aumentando la síntesis de prostaglandinas en las células de las regiones reguladoras hipotalámicas. Debido a esta propiedad se le denomina pirógeno endógeno (propiedad que comparte con la IL-1).

b) Estimula la secreción de IL-1 e IL-6 a partir de los monocitos y de las células endoteliales.

c) Estimula la síntesis hepática de la proteína A del amiloide y de otras proteínas inflamatorias de fase aguda.

d) Activa el sistema de coagulación.

e) Suprime la división de las células madre en médula ósea.

f) Produce caquexia, un estado caracterizado por el desgaste de las células musculares y grasas, debido a la supresión del apetito y de la síntesis de lipoproteinlipasa.

Cuando el TNF- α se produce en cantidades masivas, se generan cambios en el organismo que lo pueden llevar a la muerte, entre los cuales se encuentran:

a) Reducción del riego sanguíneo, al deprimir la contractilidad miocárdica.

b) Reducción de la presión arterial debido a la relajación del músculo liso vascular.

c) Producción de trombosis intravascular debido a que promueve la coagulación intravascular diseminada.

d) Producción de hipoglucemias hasta cifras incompatibles con la vida, debido a excesivo consumo de glucosa por parte del músculo.

Interleucina 1 (IL-1).

Citocina que inicialmente se conoció como un coestimulador de la activación de la célula T. Actualmente se conoce que su principal función, al igual que la del TNF, es como mediadora de la respuesta inflamatoria del huésped en la inmunidad natural. Su principal fuente celular es el macrófago; sin embargo, también es producida en células epiteliales y endoteliales. Los macrófagos la producen en respuesta a su estimulación con: productos bacterianos (LPS), otras citocinas (TNF, IL-1), contacto con linfocitos CD4+. La producción de la

citocina en grandes cantidades es principalmente en respuesta a la presencia de TNF- α . El que la IL-1 pueda ser producida por fuentes epiteliales y endoteliales es importante desde el punto de vista, en que pueden existir fuentes locales de la citocina sin la presencia de infiltrados ricos en macrófagos.

Existen 2 isoformas de la IL-1 que son alfa y beta, ambos de 17 kD pero con puntos isoeléctricos distintos. Existe un tercer miembro denominado Antagonista del Receptor de IL-1. Las isoformas alfa y beta se sintetizan como precursores de los cuales la forma alfa es activa y la forma beta necesita ser procesada por una proteasa a su forma activa. Ambas son sintetizadas como proteínas citoplasmáticas, pero se desconoce su mecanismo de secreción. La mayor parte de la actividad de la IL-1 que se encuentra en la circulación es IL-1 β .

Se conocen 2 receptores de membrana para la IL-1, los cuales son miembros de la familia de las inmunoglobulinas. El receptor tipo I tiene mayor afinidad por la IL-1 β , mientras que el tipo II por la IL-1 α . En la actualidad se desconoce si el receptor tipo II media acciones provocadas por la IL-1 o si simplemente sirve para inhibir de manera competitiva la unión de la citocina al receptor de tipo I. Lo que se conoce es que muchos de los efectos transcripcionales inducidos por la IL-1, al igual que los del TNF, implican al NF- κ B. Al unirse la IL-1 β y el TNF- α a su receptor, se produce una rápida translocación del complejo NF- κ B presente en el citoplasma de la célula, hacia el núcleo de la misma, donde se une al DNA en secuencias reguladoras específicas en los promotores de varios genes.

Los efectos biológicos de la IL-1 dependen de la cantidad de citocina liberada. A concentraciones bajas, los principales efectos biológicos son como mediadores locales de la inflamación. Específicamente actúa sobre:

- a) Los macrófagos y las células del endotelio para aumentar aun más la síntesis de IL-1 e inducir la de IL-6.
- b) Las células endoteliales promoviendo la coagulación.
- c) Las células endoteliales aumentando la expresión de moléculas de superficie que median la adhesión de los leucocitos.
- d) Los macrófagos y las células endoteliales, estimulándolos a sintetizar quimiocinas que a su vez activan neutrófilos.

Las grandes cantidades de IL-1 tienen efectos de tipo endocrino, compartiendo con el TNF la capacidad de:

- a) Producir Fiebre.
- b) Inducir la síntesis de proteínas plasmáticas inflamatorias de fase aguda, por parte del hígado.
- c) Iniciar el desgaste metabólico (caquexia).

Sin embargo, a pesar de las funciones similares de la IL-1 y el TNF, existen diferencias significativas en sus acciones, entre las cuales se encuentran:

- a) La IL-1 no produce lesión tisular por si misma. Se secreta en respuesta al LPS y puede potenciar la lesión tisular producida por el TNF.
- b) Su secreción en concentraciones muy elevadas, no es mortal.
- c) La IL-1 no puede remplazar al TNF como mediador de la reacción de Schwartzman (formación de trombos intravasculares diseminados en la superficie de las células endoteliales en respuesta al LPS).
- d) La IL-1 no produce necrosis hemorrágica en los tumores.
- e) La IL-1 no puede aumentar la expresión de moléculas de tipo I del Complejo Mayor de Histocompatibilidad.
- f) La IL-1 potencia en lugar de suprimir, la acción de los Factores Estimulantes de Colonias sobre las células de la médula ósea.

Existen inhibidores naturales de la IL-1, siendo la única citocina para la cual se han encontrado este tipo de proteínas. El mejor conocido se produce por el macrófago y es estructuralmente similar a la IL-1, uniéndose al receptor de la misma, pero sin producir ninguna respuesta biológica, por lo que constituye un inhibidor competitivo. Se denomina Antagonista del Receptor de la IL-1 (IL-1ra) y dependiendo de la célula en la que se produzca, puede ser secretado o no. Otra forma de regulación endógena de la acción de la IL-1 lo constituyen sus receptores I y II, los cuales son también secretados por las células activadas.

Interleucina 6 (IL-6).

Es una citocina de 26 kD que sintetizan los monocitos, el endotelio vascular, los fibroblastos y algunas células T activadas, en respuesta a la IL-1 y en menor grado al TNF. Puede detectarse en la circulación después de la infección por bacterias gram-negativas. Parece que el LPS estimula la secreción de TNF y de IL-1 y estas a su vez estimulan la secreción de IL-6. No produce trombosis vascular o lesión tisular.

El receptor de IL-6 consta de 2 subunidades: una receptora de 60 kD y otra transdutora de 130 kD, ambas porciones con dominio de inmunoglobulina.

Las acciones mejor descritas de la IL-6 son:

- a) Síntesis por parte de los hepatocitos de varias proteínas plasmáticas, que contribuyen a la respuesta inflamatoria de fase aguda.
- b) Sirve como factor de proliferación para las células B activadas (células plasmáticas) en fases avanzadas de su diferenciación.
- c) Se ha planteado como un co-estimulador de las células T y de los timocitos.

d) Sirve como un cofactor de otras citocinas para la proliferación precoz de células madre hematopoyéticas en la médula ósea.

Interleucina 2 (IL-2).

Es parte de una gran familia de citocinas, con estructuras homólogas de entre 8 a 10 kD, las cuales comparten la capacidad de estimular el movimiento de los leucocitos (quimiocinesis) y el movimiento dirigido (quimiotaxis) por lo que se han denominado Quimiocinas (Citocinas Quimiotácticas). Dentro de esta familia existen citocinas que regulan la activación, proliferación y diferenciación linfocitaria, y que incluyen: IL-2, IL-4, y el Factor de Crecimiento Transformador Beta (TGF- β).

La IL-2 fue inicialmente conocida como Factor de Crecimiento de la Célula T (TCGF). Es la principal responsable de la progresión de los linfocitos T desde la fase G1 a la S del ciclo celular. Se produce por los linfocitos T CD4+ y en menor cantidad por los CD8+. Tiene efecto autocrino y paracrino, careciendo de efecto endocrino. Es una glucoproteína de 14 a 17 kD codificada por un solo gen del cromosoma 4. Su receptor interacciona con varias citocinas entre las cuales se encuentran la IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, GM-CSF y el G-CSF. Se sintetiza y secreta por la célula T activada por antígeno, y la síntesis es transitoria. Las acciones principales de la citocina son:

a) Ser el principal factor de proliferación autocrino de los linfocitos T. La cantidad de citocina sintetizada por las células CD4+, determina de manera muy importante la magnitud de la respuesta inmunitaria que dependen de los linfocitos T.

b) Estimular la producción y secreción de Interferón gamma (IFN- γ) y Linfotóxina (LT) por parte del linfocito T.

c) Estimular la proliferación de las células NK e incrementar su función citolítica. A esta célula se le denomina célula agresora activada por linfocinas.

d) Actuar como factor de proliferación y como estímulo para la producción de anticuerpos por parte del linfocito B.

Existen 2 proteínas de superficie celular que se unen a la IL-2 y median sus acciones. La primera es la IL-2R α , un polipéptido de 55 kD que aparece tras la activación del linfocito T. La unión de esta citocina a células que solamente expresan este receptor no produce ninguna respuesta biológica. El otro receptor es un complejo de 2 proteínas denominado IL-2R $\beta\gamma$, de 70-75 kD, con mayor afinidad por la citocina y que al unirse a la misma provoca la proliferación de las células T. De esta manera la respuesta biológica se da en células que expresan ambos receptores o solo el último. De hecho, se cree que la función del receptor alfa es únicamente aumentar la afinidad del receptor beta-gamma por la citocina. Las células T no activas expresan únicamente el receptor beta-gamma y son estimuladas por concentraciones elevadas de IL-2. Posterior a la activación del linfocito T por el antígeno, se induce rápidamente

la expresión del receptor alfa. Aunque se conoce mucho sobre la unión de IL-2 a su receptor, se conoce poco acerca de las señales intracelulares que produce para su acción biológica. Parece estar involucrada una proteína tirosinacinasas.

La estimulación crónica del linfocito T por la IL-2 conduce a la liberación del receptor alfa de la membrana, el cual puede unirse en el plasma a la citocina, funcionando como un inhibidor competitivo. Esto parece constituir una forma de autorregulación de la acción de IL-2.

Trabajo de Parto como Proceso Inflamatorio.

Existe evidencia creciente que sugiere que el trabajo de parto es similar a un proceso inflamatorio, ya que involucra una amplia variedad de mediadores de la inflamación. Los leucocitos involucrados en este proceso son los neutrófilos y los macrófagos, los cuales contienen enzimas que degradan el colágeno (colagenasas) (12).

La etiología del trabajo de parto pretérmino es multifactorial, sin embargo, existe abundante evidencia que implica a factores infecciosos como causa etiológica posible hasta en un 40% de los casos. El trabajo de parto pretérmino espontáneo puede ser un fenómeno fisiológico que ocurre muy pronto en el embarazo o un proceso patológico como resultado de una señal anómala. Cuanto más temprano ocurra el trabajo de parto pretérmino, más probable es que este ocurra como consecuencia debida a una señal patológica (Ej: infección) (13).

Participación del proceso Infección - Inflamación en Parto Pretérmino.

En la etiología del parto pretérmino espontáneo, el proceso inflamatorio causado por infecciones, juega un papel importante en muchos casos (14). Los microorganismos se cree ascienden desde el tracto genital inferior, cruzan la barrera creada por el cérvix e invaden la decidua, las membranas corioamnióticas y el líquido amniótico. La infección se acompaña de una reacción inflamatoria mediada por el huésped, la cual involucra la acumulación de células inflamatorias en las membranas corioamnióticas y la expresión de citocinas en los tejidos fetoplacentarios. Existe evidencia que indica que los microorganismos interactúan con una familia de receptores que pertenecen al sistema de la respuesta inmune innata denominados (TLRs), los cuales activan una serie de señales intracelulares que conllevan a la puesta en función de una serie de cinasas y de el Factor Nuclear Kappa B (NF κ B), lo cual provoca la síntesis y liberación de un armamento de citocinas y péptidos antimicrobianos (15). Las prostaglandinas generadas en este proceso infección – inflamación causan contracciones uterinas y activan la producción de colagenasas que pueden llevar a la ruptura prematura de membranas (14). Esta secuencia de

eventos se apoya en la fuerte asociación entre las concentraciones elevadas de citocinas (IL-6, IL-8) en el líquido amniótico y el nacimiento pretérmino en mujeres que acuden con trabajo de parto pretérmino y con RPM (15).

Existe actualmente una cantidad enorme de información, que implica a la infección microbiana del tracto genital superior como un factor común asociado con el nacimiento pretérmino espontáneo, especialmente en aquel que ocurre antes de las semanas 30-32 de gestación (16). Se ha descrito que la invasión microbiana de la cavidad amniótica se presenta en el 10 % de las pacientes con trabajo de parto pretérmino (17). En este contexto, la infección materno-fetal retroalimenta de manera positiva la respuesta inflamatoria mediante la secreción de citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-6 e IL-1 β , las cuales ya han sido demostradas en múltiples estudios, con una concentración elevada en tejidos reproductivos, en asociación con parto pretérmino (14 y 18). Simhan et al, reportó en Agosto del 2003 que la hiporeactividad de la respuesta inmune del tracto genital, manifestada por la disminución (en lugar del aumento) en la concentración de citocinas proinflamatorias, esta asociada al desarrollo subsecuente de corioamnioititis (16).

La vaginosis bacteriana, afecta de un 9 a 28 % de las pacientes embarazadas. Se caracteriza por un reemplazo de la flora vaginal normal (compuesta por lactobacilos productores de peróxido de hidrógeno) por una flora bacteriana mixta, con altas concentraciones de bacilos anaerobios, cocos gram positivos, *Gardnerella vaginalis* y *Mycoplasma hominis*. Las secreciones vaginales de estas pacientes muestran ausencia de leucocitos, incremento de pH, olor a aminas y una cantidad incrementada de bacterias (14 y 19).

Se ha establecido recientemente que la interacción entre vaginosis bacteriana (factor ambiental) y polimorfismos del gen de TNF- α (factor genético) esta relacionado con el desarrollo de parto pretérmino. A este respecto, se ha propuesto que entre más temprano en el curso del embarazo se detecte esta patología, mayor es el riesgo de resultados obstétricos adversos. Recientemente fue publicado un meta-análisis en el cual se concluye que la vaginosis bacteriana diagnosticada antes de las 16 semanas de gestación, se relaciona con OR para parto pretérmino de 7.55, mientras cuando se diagnóstica antes de las 20 semanas, el OR disminuye a 4.20. Cuando el diagnóstico se establece posterior a las 20 semanas de gestación, el OR para parto pretérmino es de 1.53; sin embargo, con intervalos de confianza muy grandes (19).

Más de 50 citocinas y quimiocinas se encuentran involucradas en la respuesta inflamatoria ante el parto pretérmino y la RPM; sin embargo, se conoce poco acerca de papel relativo de estas proteínas y la forma en que interactúan en el proceso que conlleva a un nacimiento pretérmino (15).

La citocina mayormente relacionada con parto pretérmino en presencia de infección intraamniótica, es la IL-6. Sin embargo, al analizar las concentraciones de IL-6 en secreciones cervicales de pacientes en trabajo de parto pretérmino, entre 23 a 32 semanas de gestación, no se ha encontrado aumento en su concentración (14). Caso contrario es el de la IL-1 β , en el que se ha establecido que sus concentraciones elevadas en la secreción vaginal, correlacionan de manera directa con la cantidad de leucocitos presentes en ella, con un pH vaginal mayor a 4.5 y con altos puntajes en las tinciones de Gram, criterios comúnmente usados para definir la presencia de una flora vaginal anormal. Se ha demostrado que la IL-1 β es un componente clave de la cascada de citocinas proinflamatorias, y es capaz de inducir la síntesis de otras citocinas dentro de las cuales se encuentran la IL-6, IL-8 y el TNF- α (20).

La respuesta inflamatoria "total" puede plantearse como la relación que existe entre los factores pro y anti-inflamatorios. El desequilibrio en favor de los factores proinflamatorios, ha sido implicado en la patogénesis del trabajo de parto pretérmino relacionado a procesos infecciosos. En este contexto la relación entre la IL-1 β y el antagonista de su receptor (IL-1ra) se propone como una herramienta más precisa de medición de la respuesta inflamatoria "total", en comparación con la medición de las concentraciones absolutas de cada una. Una disminución en la relación IL-1ra : IL-1 β en el sitio de inflamación, se ha relacionado con una respuesta inflamatoria crónica más prolongada y severa. Hallazgos recientes plantean que el incremento desproporcionado en la concentración de IL-1 β sobre las concentraciones de IL-1ra en respuesta a la colonización del tracto genital inferior por bacilos gram-negativos anaerobios o por *G. vaginalis*, entre las 18 y 22 semanas de gestación, se ha relacionado con el desarrollo de parto pretérmino espontáneo.

La búsqueda de marcadores en el tracto genital inferior, que indiquen la presencia de un proceso infeccioso o inflamatorio en el tracto genital superior capaz de provocar un nacimiento pretérmino, es el principal punto de interés en las investigaciones actuales (16). Las citocinas presentes en el líquido amniótico se han propuesto como una herramienta útil en la predicción de nacimientos pretérmino, tal y como se evidencia en un estudio llevado a cabo en Europa, en el que reportan que la IL-6 tiene una sensibilidad del 83% y una especificidad del 87%; mientras que para la IL-8 reportan una sensibilidad del 91% y una especificidad del 87% (15). *Genc et al* reporta que cuando la IL-1 β se encuentra elevada en la secreción vaginal de fondo de saco, la sensibilidad para parto pretérmino es del 48%, la especificidad es del 77%, el VPP es del 21% y el VPN es del 92%. Por otra parte, cuando tomamos en cuenta la relación IL-1ra : IL-1 β , y esta se encuentra disminuida, la sensibilidad para parto Pretérmino es de 78%, la especificidad es del 51%, el VPP es del 17% y el VPN es del 95% (20).

Una prueba diagnóstica para la predicción del nacimiento pretérmino se ha buscado a lo largo de las últimas décadas; sin embargo, ninguna de las que actualmente se encuentran disponibles, cuentan con una sensibilidad o especificidad suficiente. Parece ser que dada la etiología multifactorial del nacimiento pretérmino, la única forma de mejorar su predicción sea con el uso de una combinación de diferentes marcadores (21).

Similitudes y Diferencias entre el Trabajo de Parto a Término y el Pretérmino (12).

En el trabajo de parto de término, se han realizado investigaciones inmunohistoquímicas en tejido cervical y del segmento uterino inferior, durante diferentes etapas de dilatación, en las cuales se revela una invasión progresiva del estroma cervical por neutrófilos, inicialmente limitado a las paredes de los capilares cervicales y posteriormente conforme progresa la dilatación, del resto del estroma. En contraste, las muestras de tejido cervical y del segmento uterino inferior de mujeres en trabajo de parto pretérmino, no muestran aumento significativo en el número de neutrófilos.

Los mediadores que controlan la infiltración leucocitaria del estroma cervical son las citocinas proinflamatorias. En el trabajo de parto a término, existe un aumento significativo y progresivo en las concentraciones de Factor de Necrosis Tumoral ($TNF-\alpha$), Interleucina 1 ($IL-1\beta$), Interleucina 6 ($IL-6$), e Interleucina 8 ($IL-8$) en el miometrio del segmento uterino inferior y en cérvix, conforme progresa la dilatación hasta alcanzar 4-6 cm. Posteriormente con dilataciones mayores no se han observado mayores aumentos. Al comparar los hallazgos con muestras tomadas de pacientes con trabajo de parto pretérmino, se han encontrado aumentos significativos de $IL-1\beta$, $IL-6$ e $IL-8$ conforme progresa la dilatación hasta 4 cm. Posteriormente al aumentar la dilatación, se ha encontrado disminución de la concentración de $IL-1\beta$, mientras que las de $IL-6$ e $IL-8$ continuaron en aumento. Las concentraciones de $TNF-\alpha$ no muestran modificaciones.

Posterior a su llegada a los tejidos uterinos, los neutrófilos y macrófagos se degranulan bajo la influencia de las citocinas proinflamatorias, liberando en el estroma cervical colagenasas y otras proteasas, las cuales son detectables en concentraciones crecientes en el segmento uterino inferior y que producen la ruptura de proteínas estructurales en la matriz extracelular. Este proceso asociado a los cambios en la organización y orientación de las fibras de colágeno, parece tener un papel fundamental en la rápida dilatación cervical que ocurre durante el trabajo de parto. Entre las colagenasas encontradas en especímenes de mujeres en trabajo de parto están las Proteasas de Matriz Extracelular (MMP):

- MMP-8: Estructuralmente parecida a la MMP-1 de los Fibroblastos. Secretada por Neutrófilos, degrada colágena tipo I y III.
- MMP-9: Secretada por Neutrófilos y Macrófagos, degrada colágena tipos IV, V y Elastina.

A su vez, para lograr una degradación controlada de la matriz extracelular, los fibroblastos producen Inhibidores Titulares de la Metaloproteasas (TIMP), de los cuales el más estudiado es el TIMP-1. En pacientes con trabajo de parto a término, las concentraciones de MMP-8, MMP-9 y TIMP-1 aumentan conforme la dilatación cervical progresa, fenómeno observado también en pacientes con trabajo de parto pretérmino.

Aunque no se pueden obtener conclusiones definitivas de los estudios publicados hasta ahora de parto pretérmino, existen muchas similitudes entre este y el trabajo de parto a término. Es posible que la vía final y común con respecto a la fisiología, bioquímica y endocrinología del trabajo de parto pretérmino y de término, sea la misma.

Teorías de un Modelo de Inicio de Trabajo de Parto.

Existe la teoría de que el proceso desencadenante del trabajo de parto inicia con la disminución del efecto relajante de la progesterona sobre el miometrio. Ello podría producirse por una disminución en los receptores de progesterona, o como se ha demostrado más recientemente, debido a un cambio en la expresión de los receptores de la hormona en el miometrio. Existen 2 tipos de receptores para progesterona denominados PR-A y PR-B, de los cuales la estimulación del receptor tipo B produce actividad biológica, mientras que la estimulación del receptor tipo A no. Al final del embarazo ocurre un incremento del PR-A en el miometrio, provocando una disminución de la actividad de la progesterona a este nivel, sin necesidad de que disminuyan las concentraciones de la hormona en la sangre. Al mismo tiempo, existe aumento de los receptores de estradiol en el miometrio, provocando cambios que favorecen la preparación para la contractilidad mediante la aumento en la expresión de receptores de oxitocina, aumento en la producción de prostaglandina sintetasas y aumento en la síntesis de conexinas. Los cambios hormonales que propician el inicio del trabajo de parto están bajo el control de la Hormona Liberadora de Corticotropina (CRH) de origen placentario (o materno en condiciones de estrés) (4).

La disminución del efecto de progesterona sobre el miometrio, genera un aumento en la producción de IL-8 por parte de los fibroblastos a nivel del segmento uterino inferior y cervical. La activación de macrófagos en el estroma de estas estructuras, provoca la liberación de TNF- α e IL-1 β , lo cual induce un aumento en la expresión de moléculas de adhesión endotelial con la

subsecuente extravasación de granulocitos en el estroma cervical. A su vez el incremento en la IL-8 provoca quimiotaxis y degranulación de neutrófilos y macrófagos en esta zona. Por otra parte, el aumento en las concentraciones de hialuronan es un potente inductor de la síntesis de IL-1. Es importante mencionar que tanto TNF- α como IL-1 β promueven la producción de IL-6 e IL-8 por los fibroblastos cervicales. La IL-6 estimula la síntesis de prostaglandinas y leucotrienos, fundamentales en el proceso de maduración cervical y actividad uterina (12).

La activación y degranulación de neutrófilos y macrófagos en el estroma cervical, es mediada por citocinas y libera proteasas hacia la matriz extracelular, la cual se encuentra modificada por el proceso de maduración cervical. En este momento inicia un proceso de proteólisis sostenida, el cual es limitado en tiempo y es controlado por concentraciones crecientes de inhibidores titulares de proteasas (TIMP-1 y α 2-macroglobulina) (12,13).

OBJETIVO.

Caracterizar la expresión de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-2) involucradas en los mecanismos de inducción y activación del trabajo de parto humano.

HIPÓTESIS.

La activación progresiva de los tejidos relacionados con el desarrollo del trabajo de parto humano generan mediadores que tienen expresión temporal específica. La progresión en el curso clínico del embarazo hacia el trabajo de parto mostrará un gradiente de respuesta biológica identificable a través de las concentraciones de dichos mediadores en muestras de secreciones cervicovaginales.

JUSTIFICACIÓN.

El parto pretérmino y la RPM complican entre 10 y 15% de todos los embarazos, por lo que representan un problema de salud pública, debido a la alta incidencia de complicaciones que se asocian a los neonatos y sus madres.

De todo lo anterior, destaca la necesidad de desarrollar elementos útiles en la clínica que permitan identificar a las mujeres embarazadas que desarrollarán estas complicaciones y en consecuencia, implementar un programa de vigilancia prenatal dirigido a esa población de riesgo.

CAPÍTULO 2: MATERIAL Y MÉTODOS.

TIPO DE DISEÑO.

Observacional.

CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO.

- En relación al método de observación: Pseudocohorte.
- En relación al tipo de análisis: Analítico.
- En relación a la temporalidad: Reconstrucción longitudinal con cortes transversales.

UNIVERSO, LUGAR Y DURACIÓN.

El presente estudio se llevó a cabo en el Instituto Nacional de Perinatología, de Julio del 2004 a Julio del 2006, en mujeres embarazadas que acudieron a control prenatal y que reunieron los criterios de inclusión.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN.

Inclusión.

- Edad gestacional al momento del ingreso al estudio mayor a 10 semanas de gestación.
- Control prenatal en Consulta Externa que incluya al menos 3 consultas a lo largo de su embarazo.
- Que durante el curso de su embarazo pudieron ser clasificadas dentro de alguno de los estadios clínicos que se describen adelante.
- Resolución del embarazo en el INPer, conforme a los criterios institucionales.
- Aceptación a participar en el estudio mediante firma de una carta de consentimiento informado.

Exclusión.

- Embarazadas con complicaciones médicas u obstétricas del embarazo tales como:
 - Placenta previa.
 - Diabetes mellitus o gestacional.
 - Malformaciones fetales mayores.
 - Incompetencia Istmico - Cervical.
 - Polihidramnios u oligohidramnios.
 - Malformaciones uterinas.

- Enfermedad hipertensiva asociada al embarazo.
- Epilepsia.
- Qué no acudan a control prenatal dentro de la institución.
- Que resuelvan el embarazo en una institución diferente al INPer.

Eliminación.

Se eliminaron pacientes que en el seguimiento longitudinal desarrollaron alguna de las complicaciones del embarazo que se describieron en los criterios de exclusión.

VARIABLES EN ESTUDIO.

Las pacientes que participaron en este estudio se reclutaron en la consulta externa o en el servicio de urgencias del INPer, conforme a los criterios de inclusión y fueron clasificadas en categorías que denominamos estadios clínicos, los cuales representan distintas etapas de la evolución del trabajo de parto que ocurre pretérmino o a término. Los estadios clínicos se definieron de la siguiente manera:

- **Estadio 1:** Pacientes con embarazo entre 10 y 36.6 semanas de gestación, sin evidencia de actividad uterina o cambios cervicales.
- **Estadio 2:** Pacientes de 37 semanas o más, que desarrollen trabajo de parto espontáneo.
- **Estadio 3:** Pacientes admitidas en el Servicio de Urgencias con diagnóstico de amenaza de parto pretérmino, con membranas íntegras, que respondan a las maniobras de uteroinhibición y que no desarrollen parto pretérmino en las siguientes 24 horas.
- **Estadio 4:** Pacientes con ruptura prematura de membranas y que desarrollen parto pretérmino espontáneo en las siguientes 48 horas.

Una vez que la paciente fue clasificada en alguno de los estadios clínicos antes mencionados, se tomó muestra de la secreción presente en el fondo de saco posterior de la vagina, misma que se envió al laboratorio de la Dirección de Investigación del INPer para ser procesada. En este diseño se excluyó la necesidad de seguir a la misma paciente varias veces y en cambio, se integraron grupos de muestras pertenecientes a los diferentes estadios clínicos y así correlacionarlos con las variables bioquímicas.

Las variables dependientes estudiadas son de tipo clínico y comprenden el desarrollo de trabajo de parto ya sea pretérmino o a término, con y sin ruptura prematura de membranas. Por otra parte, las variables independientes del estudio son de tipo bioquímico y comprenden las concentraciones en secreción cervicovaginal, de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6 y TNF- α). El valor pronóstico de las pruebas utilizadas, fue calculado con base en el desarrollo de

parto pretérmino y/o ruptura prematura de membranas. Estas condiciones clínicas se definen en la siguiente sección y su diagnóstico constituye la variable de desenlace final.

De cada paciente, se revisó el expediente clínico para integrar una base de datos que contempló la siguiente información:

- Historia Clínica: Información referente al interrogatorio y exploración física, a la que se agregó registro de ultrasonido. Se determinó la edad gestacional y las características del cérvix.
- Exudado cervicovaginal con estudio microbiológico.
- Resultados de biometría hemática completa y química sanguínea.
- En el caso de sospecha de RPM, confirmación con criterios institucionales.
- Datos demográficos generales.
- Antecedente de parto pretérmino.

DEFINICIONES OPERATIVAS.

Las definiciones que se utilizaron en el proyecto se ajustan a las Normas de Ginecología y Obstetricia del INPer. Aquellas que no aparecen en ésta referencia, se derivan de consensos internacionales.

- **Edad gestacional.** Se calculó a partir de la fecha de la última menstruación y fue confirmada por valoración con ultrasonido al momento de ingreso al proyecto.
- **Parto pretérmino.** Desarrollo de parto antes de las 37 semanas de gestación.
- **Amenaza de parto pretérmino.** Se define como la presencia de actividad uterina aumentada en frecuencia, intensidad y duración, acompañada de modificaciones cervicales antes de las 37 semanas completas de embarazo. El diagnóstico se establece confirmando edad gestacional de 20 a 36 semanas, presencia de 6 o más contracciones efectivas en 1 hora y modificaciones cervicales como borramiento o dilatación en el orificio cervical interno.
- **Ruptura prematura de membranas.** Salida de líquido amniótico transvaginal por una solución de continuidad de las membranas ovulares en embarazos mayores de 20 semanas y por lo menos dos horas antes del inicio del trabajo de parto. El diagnóstico se establece por historia clínica y especuloscopia. La presencia de líquido amniótico en vagina será confirmado por cristalografía.
- **Cambios cervicales.** Las modificaciones cervicales se establecen por medio de tacto vaginal y especuloscopia. Se corroboran mediante registro por ultrasonido.

- **Actividad uterina.** Identificada por palpación a nivel abdominal de un tono uterino aumentado y corroborada con un trazo cardiotocográfico. La actividad uterina se clasificó en estadios de acuerdo a un registro de tocodinamometría (TDM) de 30 minutos con obtención de unidades Montevideo, de la siguiente manera:
 - **Actividad uterina normal.** Se refiere a las contracciones uterinas que experimenta la mujer embarazada de manera aislada durante las diferentes etapas del embarazo. Corresponden al estadio 1 del registro TDM definido en la Tabla 1.
 - **Amenaza de parto pretérmino.** Definida anteriormente. El registro TDM corresponde al estadio 2 de la tabla 1.
 - **Trabajo de parto a término espontáneo.** Se define como la presencia de actividad uterina aumentada en frecuencia, intensidad y duración, acompañada de modificaciones cervicales, entre las 37 y 42 semanas completas de embarazo. El registro TDM corresponde también al estadio 2 de la tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de actividad uterina por tocodinamometría (TDM).

Estadio	Frecuencia [*]	Intensidad ^{&}	Duración ⁺
1	0-1	0 - 10	0-10
2	> 2	50 - 75	45-90

* La frecuencia se refiere al número de contracciones existentes en 10 minutos.

& La intensidad corresponde a la elevación de la presión ejercida por la contracción uterina, sobre

el tono uterino normal, considerado como cifra basal. Se expresa en mmHg.

+ La duración corresponde al tiempo transcurrido desde la elevación sobre la presión uterina basal

hasta su regreso a la misma. Se expresa en segundos.

MÉTODOS ANALÍTICOS.

Toma de Muestras.

La primera maniobra realizada en la exploración de las pacientes, fue la toma de dos muestras de exudado cervicovaginal empleando el kit de análisis de fibronectina fetal (ADEZA, CA), el cual consta de hisopo de Dacrón estéril y tubo de transporte con 1 ml de amortiguador (Tris-base 0.05M, NaCl 0.15M, BSA 1%, Tween-20 al 0.1%). Para la toma de la muestra, fue necesaria la colocación de un espejo vaginal estéril. Posteriormente el espécimen se colectó del fondo de saco vaginal posterior (Saco de Douglas) e inmediatamente

después, se colocó el hisopo dentro del tubo de transporte y se conservó en refrigeración a 4°C, para ser transportado al laboratorio.

Una vez en laboratorio, se desechó el hisopo y el contenido del tubo se centrifugó a 2000 xg, 4°C durante 15 minutos, para precipitar los residuos celulares y desechos. El sobrenadante fue recuperado y se tomó una alícuota del mismo para el análisis de fibronectina; el resto se conservó a -20°C.

Análisis de Citocinas mediante el Sistema de Micro arreglo Soluble.

La detección y cuantificación de citocinas presentes en las muestras de exudado cervicovaginal se realizó utilizando el sistema de detección múltiple de moléculas en suspensión Bio-Plex (Bio-Rad, Hércules, Cal). Este método se basa en la combinación de 2 técnicas. La primera de ellas, consiste en la realización de un ELISA donde se atrapa una proteína entre dos anticuerpos: uno de captura adherido a una superficie sólida y otro de detección el cual se marca con biotina. Ambos anticuerpos específicos se unen mutuamente en sitios exclusivos de la proteína. La segunda técnica, es la Citometría de Flujo, la cual puede separar y cuantificar células o partículas marcadas con fluorocromos, a partir de una mezcla. Al hacer la combinación de las técnicas, el sistema Bio-Plex utiliza micro esferas como la base sólida, las cuales son manufacturadas con un código de color específico elegido dentro 100 diferentes tonalidades, en una gama fluorescente que va del naranja al rojo. Para la detección de la proteína específica, se utiliza un anticuerpo específico policlonal biotinilado, que se encuentra fijo a la superficie de la esfera, de manera que cada color de la esfera corresponde a un anticuerpo diferente, mono-específico para la citocina correspondiente. El último paso de identificación se realiza con una molécula reportera con marcaje fluorescente (estreptavidina-ficoeritrina). La identificación de las esferas se realiza en un canal en donde una por una, las esferas se exponen a 2 diferentes láser. El primero excita la esfera y detecta el código de la misma, discriminando entre una molécula y otra; el segundo láser (verde), excita el marcaje fluorescente y de esta forma cuantifica la señal emitida por el complejo anticuerpo-citocina-estreptavidina fluorescente que se encuentra sobre la superficie de la esfera.

Cincuenta μ l / pozo de microesferas conjugadas con anticuerpos, se incuban con 50 μ l de muestra en una placa de 96 pozos con base membranal especial para el flujo de líquido a través de ella sin permitir el paso de las esferas. Las moléculas capturadas son detectadas con la incubación de 25 μ l de un segundo coctel de anticuerpos específicos conjugados con biotina. El final del sándwich inmunológico consiste en una molécula reportera con marcaje fluorescente, como es la estreptavidina-ficoeritrina (estreptavidina-PE). La detección y cuantificación de cada una de las moléculas se realiza con el lector de placas Bio-Plex, que detecta cada una de las esferas, determina a que citocina pertenece y cuantifica la señal emitida por la molécula reportera. Así, el

resultado proporcionado por el programa de análisis del equipo a través de regresión permite obtener resultados 100% cuantitativos para cada una de las moléculas analizadas en las muestras.

La muestra para análisis de citocinas proinflamatorias se tomó tal y como se describe en el apartado anterior de toma de muestra. La punta del hisopo fue transferida a un tubo con un sistema amortiguador adicionado con un coctel de inhibidores de proteasas, para su transporte al laboratorio. La muestra de exudado se tomó aunque existiera presencia de líquido amniótico, sangrado o leucorrea y ante estas características se anotó en el expediente cualquiera de estos detalles. Los tubos fueron procesados en el laboratorio para la determinación de los marcadores que se señalan adelante.

Determinación de Mediadores del Proceso Inflamatorio.

Las moléculas que fueron detectadas en las secreciones cervicovaginales son las siguientes:

- Interleucina 1- β (IL-1 β)
- Interleucina 6 (IL-6)
- Factor de necrosis tumoral- α (TNF- α)
- Interleucina 2 (IL-2)

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Se utilizó estadística descriptiva para realizar la reseña de las características de ingreso de las pacientes de cada grupo y en su conjunto. Se reportan datos como media, rangos, para todas las variables cuantificadas (edad, citocinas, etc.). Las variables categóricas (historia previa de parto prematuro, abortos previos, etc) y las variables ordinales son representadas como frecuencias. Todos los datos se analizaron en forma gráfica.

Los valores de cambios de las distintas citocinas y moléculas efectoras en las pacientes, entre los diferentes estadios clínicos, fueron analizados con pruebas apropiadas como análisis de varianza (ANOVA) para examinar las diferencias entre los distintos grupos.

ASPECTOS ETICOS.

Este estudio ha sido diseñado de acuerdo a las recomendaciones emitidas por el American College of Obstetrician and Gynecologists (ACOG Committee Opinion on Ethical Considerations in Research Involving Pregnant Women, ACOG Committee Opinion Number 213, 1998). Las pacientes firmaron una

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO al aceptar participar en el estudio, de la cual recibieron una copia que permaneció en su poder.

Se trata de un estudio con riesgo mayor al mínimo ya que requirió de dos tomas de exudado cervicovaginal, que no se realizan de manera rutinaria en el INPer. El resto de las maniobras forman parte del manejo habitual que se realiza en las pacientes del Instituto.

CAPÍTULO 3: RESULTADOS.

Las características demográficas de las pacientes se presentan en las tablas 2 a 5. La muestra se integra por 157 pacientes, distribuidas en 4 estadios o grupos dependiendo de las características clínicas de las mismas. La edad de las pacientes en los diferentes grupos osciló como mínimo entre los 14 y 18 años, mientras que el máximo comprendió entre los 35 y 45 años. Esto es muestra de la amplia variedad de edad con la que las pacientes acuden a atención al Instituto Nacional de Perinatología, siendo parte importante de los criterios de admisión el embarazo asociado a la adolescencia y la edad materna avanzada. En cuanto a la edad gestacional, la mínima fue de 10.1 semanas, mientras que la máxima fue de 40.3 semanas. Por otra parte, los antecedentes obstétricos aunque varían de grupo a grupo, se mantuvieron relativamente constantes.

Tabla 1. Grupo 1: Sin actividad Uterina.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
Edad	60	16	43	30.40	6.758
Menarca	59	8	15	12.03	1.640
Edad gestacional*	59	10.1	36.6	25.85	6.837
Número de gestas	61	1	6	2.48	1.337
Abortos	61	0	3	0.49	0.744
Partos	61	0	4	0.61	1.084
Cesáreas	61	0	3	0.51	0.868

* Edad gestacional expresada en semanas.

Tabla 2. Grupo 2: Trabajo de parto.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
Edad	46	14	41	26.85	8.319
Menarca	43	9	15	11.88	1.434
Edad gestacional*	51	37	40.3	36.72	3.803
Número de gestas	51	1	7	2.31	1.631
Abortos	51	0	3	0.29	0.672
Partos	51	0	4	0.76	1.124
Cesáreas	51	0	3	0.27	0.635

* Edad gestacional expresada en semanas.

Tabla 3. Grupo 3: Amenaza de parto pretérmino.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
Edad	26	14	45	25.15	9.272
Menarca	33	9	16	12.30	1.759
Edad gestacional*	30	21.4	36.6	31.56	3.831
Número de gestas	32	1	7	2.53	1.626
Abortos	33	0	4	0.48	1.004
Partos	33	0	2	0.33	0.692
Cesáreas	33	0	2	0.67	0.854

* Edad gestacional expresada en semanas.

Tabla 4. Grupo 4: Ruptura prematura de membranas.

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar.
Edad	10	18	35	24.40	5.967
Menarca	9	11	16	12.56	1.667
Edad gestacional*	12	32.0	40.0	37.19	2.679
Número de gestas	12	1	7	1.75	1.865
Abortos	12	0	0	0	0
Partos	12	0	3	0.50	1.168
Cesáreas	12	0	3	0.25	0.866

* Edad gestacional expresada en semanas.

La distribución de las citocinas por grupos se muestra en las figuras 1 a 4. La concentración absoluta de las citocinas encontrada en las muestras de secreción cervicovaginal tomada a las pacientes, se grafica con base a su distribución con respecto a la media y desviación estándar.

La figura 1 muestra la distribución que presentó la Interleucina 1 β en los grupos de estudio 1 a 4. El grupo sin actividad uterina muestra una concentración media absoluta alrededor de los 500 ng/ml, mientras que el grupo de parto a término alrededor de los 1000 ng/ml. Por otra parte la concentración media absoluta de IL-1 β para el grupo de Amenaza de Parto Pretérmino cercana a los 1250 ng/ml, mientras que para el grupo de RPM fue apenas por arriba de 500 ng/ml.

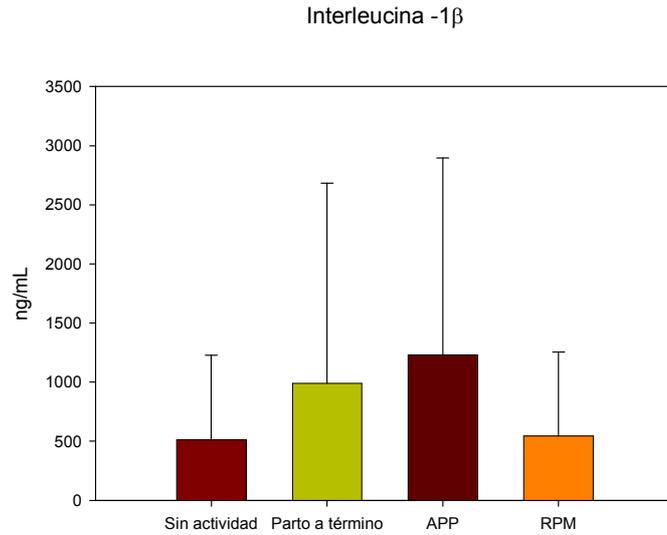


Figura 1. Concentración de IL-1 β en secreciones cervicovaginales por grupos.

Al comparar las concentraciones de IL-1 β entre los grupos tal y como se muestra en la tabla 6, encontramos que la diferencia entre el grupo sin actividad uterina y el grupo de parto a término, así como la encontrada entre el grupo de RPM y el de parto a término, es estadísticamente significativa. La diferencia encontrada entre los demás grupos no fue estadísticamente significativa.

Tabla 5. Comparación entre grupos de la concentración de IL-1 β en secreciones cervicovaginales.

	Parto a término	APP	RPM
Sin actividad	0.018	N.S.	N.S.
Parto a término	xxxxx	N.S.	0.043
A.P.P.	N.S.	xxxxx	N.S.
R.P.M.	0.043	N.S.	xxxxx

* El valor mostrado corresponde al de p .
N.S. = No significativo.

En cuanto al Factor de Necrosis Tumoral Alfa (TNF- α), la figura 2 muestra las concentraciones medias absolutas en la secreción cervicovaginal. Para el grupo sin actividad uterina alrededor de 150 ng/ml, Parto a término alrededor de los 225 ng/ml, Amenaza de parto pretérmino cercana a los 275 ng/ml y RPM por arriba de 160 ng/ml.

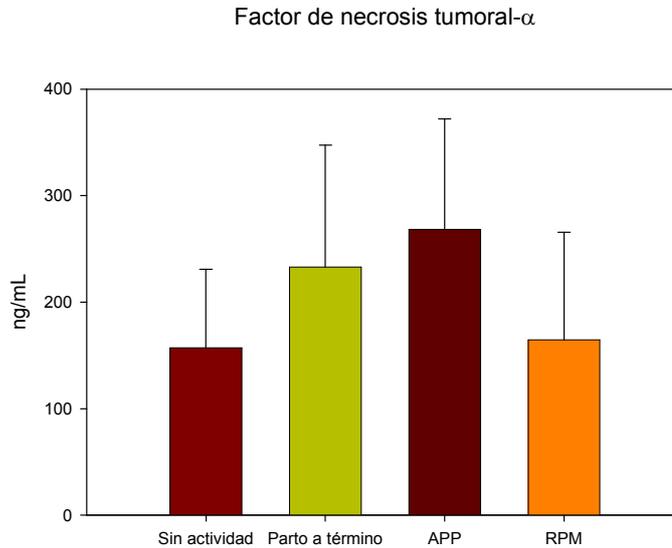


Figura 2. Concentración de TNF- α en secreciones cervicovaginales por grupos.

De la misma forma, la tabla 7 muestra que al comparar las diferencias encontradas entre los distintos grupos, únicamente 3 son estadísticamente significativas.

Tabla 6. Comparación entre grupos de la concentración de TNF- α en secreciones cervicovaginales.

	Parto a término	APP	RPM
Sin actividad	0.0001	0.0001	N.S.
Parto a término	xxxxx	N.S.	N.S.
A.P.P.	N.S.	xxxxx	0.01
R.P.M.	N.S.	0.01	xxxxx

* El valor mostrado corresponde al de p .
N.S. = No significativo.

Los resultados mostrados en la figura 3, indican que las concentraciones medias absolutas de IL-6 fueron: Grupo sin actividad uterina casi nula, parto a término alrededor de los 550 ng/ml, APP casi nula, pero mayor al grupo sin actividad uterina, y RPM cercana a los 250 ng/ml.

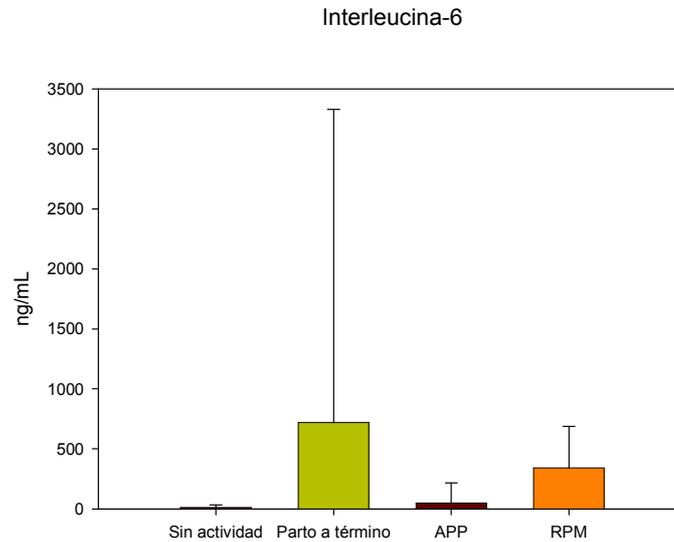


Figura 3. Concentración de IL-6 en secreciones cervicovaginales por grupos.

La tabla 8 muestra la comparativa entre grupos: La diferencia entre el grupo sin actividad uterina y el grupo RPM; así como la encontrada entre el grupo de APP con el de RPM, fueron estadísticamente significativas.

Tabla 7. Comparación entre grupos de la concentración de IL-6 en secreciones cervicovaginales.

	Parto a término	APP	RPM
Sin actividad	N.S.	N.S.	0.01
Parto a término	xxxxx	N.S.	N.S.
A.P.P.	N.S.	xxxxx	0.002
R.P.M.	N.S.	0.002	xxxxx

* El valor mostrado corresponde al de p .
N.S. = No significativo.

Finalmente, la figura 4 muestra las concentraciones de IL-2 encontradas en las muestras tomadas: Grupo sin actividad uterina 0.6 ng/ml, Parto a término 1.25 ng/ml, APP 1.0 ng/ml y RPM 0.5 ng/ml.

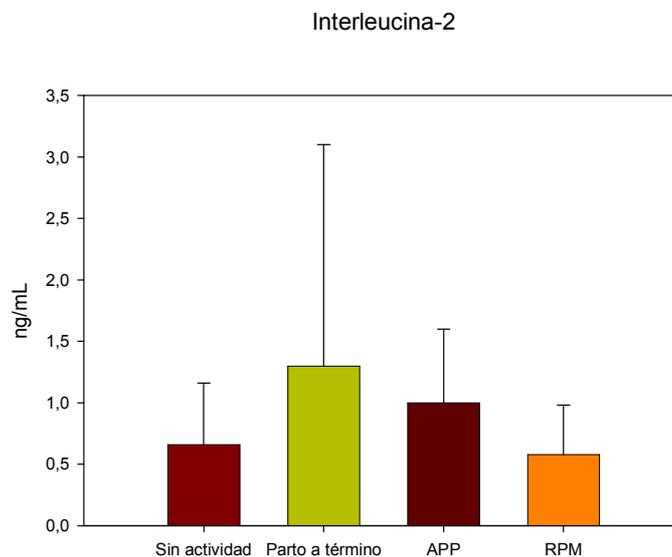


Figura 4. Concentración de IL-2 en secreciones cervicovaginales por grupos.

Al comparar los grupos, los resultados de la tabla 9 muestran que las diferencias entre los grupos sin actividad uterina vs. parto a término y APP son significativas. Así mismo, la diferencia entre Parto a término y RPM fue significativa, al igual que la diferencia entre APP vs. RPM con una p marginal.

Tabla 8. Comparación entre grupos de la concentración de IL-2 en secreciones cervicovaginales.

	Parto a término	APP	RPM
Sin actividad	0.016	0.024	N.S.
Parto a término	xxxxx	N.S.	0.01
A.P.P.	N.S.	xxxxx	0.034
R.P.M.	0.01	0.034	xxxxx

* El valor mostrado corresponde al de p .
N.S. = No significativo.

CAPÍTULO 4: DISCUSIÓN.

El fundamento para la realización del presente estudio (tal y como se menciona en el capítulo 1) es la incidencia actual del nacimiento pretérmino en nuestro medio, así como la necesidad de impactar sobre el mismo a través de elementos útiles en la clínica que permitan identificar a las mujeres embarazadas que desarrollarán estas complicaciones y en consecuencia, implementar un programa de vigilancia prenatal dirigido a esa población de riesgo.

En la clínica obstétrica, es de vital importancia la detección oportuna de un trabajo de parto pretérmino, el tratamiento del mismo y el pronóstico para ese embarazo en particular. En este último contexto, es primordial anticipar aquellos embarazos en que a pesar de un tratamiento adecuado, se encuentren con el mayor riesgo de un nacimiento pretérmino a corto y mediano plazo, debido a que son estos casos en los que se deben enfocar todos los recursos humanos y materiales para poner a la paciente y al feto en las mejores condiciones en caso de que el curso del embarazo progrese hacia un nacimiento pretérmino. Las pacientes con el mayor riesgo de un nacimiento pretérmino en las siguientes 24 a 48 hrs de identificado un trabajo de parto, son las que representan el mayor problema debido a varias situaciones que mencionare a continuación, no necesariamente en orden de importancia.

La primera de ellas es el aún elevado número de pacientes que se presentan para atención médica al servicio de urgencias con un trabajo de parto pretérmino establecido y con modificaciones cervicales avanzadas que no la hacen candidata a un protocolo de uteroinhibición y en consecuencia se debe permitir el nacimiento de un feto pretérmino. En este mismo contexto, es también importante aquellas pacientes en que por lo avanzado de las modificaciones cervicales, a pesar de ser candidatas a un protocolo de uteroinhibición, la probabilidad de prolongar el embarazo exitosamente disminuye de manera importante. Es por ello que debemos sensibilizar de manera efectiva a la paciente durante el embarazo, acerca de la detección oportuna de una amenaza de trabajo de parto pretérmino (APP) y la necesidad de acudir oportunamente en busca de atención médica.

En segundo lugar, una vez que la paciente acude con APP en busca de atención médica, el clínico se enfrenta al problema de discernir cuales son las pacientes que deben ser hospitalizadas para tratamiento y vigilancia del embarazo por el alto riesgo de un nacimiento pretérmino en las siguientes 24 - 48 hrs y cuales son las pacientes que pueden tratarse exitosamente en el servicio de urgencias y egresarse a su domicilio para continuar la vigilancia de su embarazo como externas. Esta decisión muchas veces basada en criterios subjetivos y en la experiencia anecdótica del médico, debe tener un fundamento científico basado en la evidencia. Actualmente los criterios clínicos

que tenemos para la toma de esta decisión son: Longitud cervical por medición ultrasonográfica endovaginal y determinación de Fibronectina Oncofetal en secreciones cervicovaginales presentes en fondo de saco vaginal posterior. En la literatura es debatida la sensibilidad y especificidad de estas pruebas diagnósticas y no existe un estándar de oro contra el cual compararlas. Es por ello que el enfoque se ha establecido más en cuales son las pacientes que podemos egresar del servicio dado que el riesgo de un nacimiento pretérmino a corto plazo es bajo, y son pacientes con una longitud cervical superior a los 2.5 cm, con una determinación de Fibronectina Oncofetal en secreciones cervicovaginales negativa. En las demás pacientes sobre todo en aquellas con modificaciones cervicales, es preferible su vigilancia en hospitalización y la preparación en caso de una eventual progresión hacia un nacimiento pretérmino.

Otro punto de importancia radica en la inducción farmacológica de madurez pulmonar fetal a través de la aplicación de esteroides parenterales en la madre. Este proceso requiere de un intervalo de tiempo mínimo de 72 hrs después de la aplicación de la primera dosis, para lograr el efecto máximo. Si bien es cierto que se ha postulado que es mejor aplicar una dosis de esteroide que no aplicar nada, nuestro esfuerzo debe encaminarse a prolongar el embarazo de manera efectiva por 72 hrs como mínimo, lo cual le permitirá al feto enfrentar en mejores condiciones las agresiones de la vida extrauterina.

A partir de lo citado en los párrafos anteriores, se destaca la necesidad de brindar al clínico una herramienta más para fundamentar la toma de sus decisiones. La caracterización de un perfil de citocinas proinflamatorias en el desarrollo del parto pretérmino, es importante desde el punto de vista que aborda el problema desde las bases moleculares del mismo. La relación que se logre establecer con la clínica de una paciente con APP permitirá establecer pacientes con riesgo aumentado de un nacimiento pretérmino a corto plazo.

Tal y como se ha establecido desde el capítulo introductorio, en toda paciente existe un sistema de citocinas proinflamatorias y uno de citocinas antiinflamatorias involucradas en los mecanismos moleculares del desarrollo de APP y RPM. Se ha postulado que la predominancia de un sistema sobre el otro es crítico en el desarrollo de estas patologías. Las citocinas proinflamatorias descritas en la literatura mundial como asociadas al desarrollo de un nacimiento pretérmino han sido mayormente IL-1 β , TNF- α , IL-6 e IL-2. Su relación temporal en el curso del embarazo, con la secuencia de eventos que nos conducen a un nacimiento pretérmino pueden convertirla en una prueba útil para determinar pacientes con riesgo de un nacimiento pretérmino a corto plazo.

En este contexto, se integro una muestra de pacientes mayores a 10 semanas de gestación, las cuales se tomaron en momentos distintos del embarazo y cuyas características permitieron agruparlas en alguno de 4 estadios clínicos: Sin actividad uterina, con trabajo de parto a término, con APP y uteroinhibición exitosa al menos por 24 hrs y finalmente con RPM y nacimiento pretérmino. Es importante mencionar que la participación de la paciente en el estudio fue en un momento específico de su embarazo y que no se dio seguimiento a la misma paciente durante el curso del mismo.

El establecer estos estadios nos permite explorar el curso clínico que tomaría una paciente en su progresión hacia un nacimiento pretérmino: primeramente la presencia de un embarazo normoevolutivo sin actividad uterina (estadio 1); posteriormente el desarrollo de actividad uterina sin determinar la causa, que ponga en riesgo el embarazo de un nacimiento pretérmino, pero que pueda ser susceptible inhibición (estadio 3); y finalmente el desarrollo de un nacimiento pretérmino ya sea secundario a la progresión de un trabajo de parto (estadio 2) o a RPM (estadio 4). Es necesario precisar que el estadio 2 se compone de pacientes con trabajo de parto a término. Esto es debido a que lo que nos interesa es el desarrollo del trabajo de parto que conlleva a un nacimiento como tal, para la determinación de citocinas en ese momento y no su temporalidad con el embarazo. Su utilización es valida, desde el punto de vista establecido en la literatura que el trabajo de parto pretérmino es similar al de término en cuanto a su mecanismo de desarrollo y que la diferencia radica, en los factores que precipitan su aparición antes del término del embarazo (13).

Una vez que las pacientes fueron agrupadas en estadios, se determinaron las citocinas proinflamatorias en las muestras cervicovaginales obtenidas del fondo de saco vaginal posterior. Las concentraciones de cada citocina por estadio clínico se graficaron y la relación entre cada una de ellas fue evaluada mediante prueba de ANOVA no paramétrica estableciendo asociaciones con significancia estadística, reportando en cada tabla el valor de p . En caso de que la asociación mostrara diferencia, pero esta no fuera estadísticamente significativa se marco con "N.S." en dichas tablas.

Las características demográficas de las pacientes son relativamente similares entre los grupos de pacientes. En algunas pacientes no fue posible determinar algunos datos, situación que se reporta en las tablas 1 a 4. Es importante mencionar que para el grupo sin actividad uterina, fuimos permisivos en incluir pacientes con edad gestacional muy temprana, debido a que en estas semanas de embarazo si la paciente se encuentra asintomática, confiamos en la ausencia de actividad uterina con mayor seguridad.

En cuanto al comportamiento de la IL-1 β y TNF- α , apreciamos que el grupo 3 presentó la mayor concentración y los grupos 1 y 4 la menor; situación que contrasta con el comportamiento de la IL-6 y la IL-2, en las cuales el grupo 2 tiene las máximas concentraciones y las mínimas el grupo 4. Sin embargo al comparar entre ellos, la diferencia significativa varía.

En el caso de la IL-1 β , la diferencia entre el grupo 2 vs. 1 y 4 es significativa, indicando que la citocina se eleva en pacientes con trabajo de parto, con respecto a cuando no existe actividad uterina o si se presenta RPM. Para TNF- α la diferencia significativa fue entre el grupo 1 vs. 2 y 3, y entre 3 vs. 4. Esto nos indica que existe elevación de TNF- α durante el APP y el parto a término, con respecto al estado sin actividad uterina; y que esta elevación durante el APP es mayor que cuando la paciente presenta RPM. La situación de la IL-6, indica que la diferencia fue significativa al comparar los grupos 4 vs. 1 y 3. Esto nos habla de que ante situaciones capaces de generar RPM, existe elevación de IL-6 con respecto a cuando la paciente no presenta actividad uterina o incluso ante la presencia de APP. Finalmente, las comparaciones con significado estadístico en el caso de la IL-2 fueron entre los grupos 1 vs. 2 y 3; además de 4 vs. 2 y 3. Dicho de otra manera, la elevación de IL-2 es mayor durante el trabajo de parto a término y APP con respecto a cuando la paciente carece de actividad uterina o cuando presenta RPM, y que esta elevación es mayor durante el trabajo de parto a término que durante el APP, sugiriendo que en la progresión de APP a un trabajo de parto con capacidad de provocar un nacimiento se encuentra involucrada una mayor concentración de IL-2.

Es importante mencionar el hecho de que la distribución de los valores de IL-1 β en los grupos 2 y 3, así como el de IL-6 para grupos 2 y 3 y el de IL-2 para grupo 2, tiene una oscilación amplia, marcada por desviaciones estándar que superan el valor de la media. Esto puede estar en relación a la presencia de uno o más factores que no estemos tomando en consideración. Esta situación es muy marcada para el grupo 2 de IL-6 y de IL-2.

Otra observación importante es que la única situación en que la RPM tiene elevación estadísticamente significativa con respecto a los otros grupos es en el caso de la IL-6. Esta citocina se ha descrito ampliamente, como elevada en casos infecciosos que derivan en nacimiento pretérmino, sobretodo de la cavidad amniótica. Esto es congruente con el hecho de que en la mayor parte de las ocasiones, la RPM se acompaña de un proceso infeccioso ya sea manifiesto o subclínico.

Lo que podemos concluir a partir de los resultados obtenidos del presente estudio es, que en las pacientes con amenaza de parto pretérmino, existe elevación de las citocinas proinflamatorias IL-1 β , TNF- α , IL-6 e IL-2, con respecto a las pacientes que no presentan actividad uterina, y que la elevación

encontrada únicamente es estadísticamente significativa en el caso de TNF- α e IL-2. Esto no representa forzosamente el que la elevación de las otras citocinas no esté relacionada con el desarrollo de parto pretérmino. Es necesario un seguimiento longitudinal de las pacientes que finalizan su embarazo prematuramente a consecuencia de un trabajo de parto pretérmino, para observar el comportamiento de la citocinas proinflamatorias a lo largo del embarazo y antes del evento.

CAPÍTULO 5: REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Ahued-Ahued JR, Quesnel GC, Simon PL. Parto y Cesárea En: Ahued - Ahued JR, Quesnel GC, Simon PL, editor Programa de actualización continua para ginecología y obstetricia. México DF: Intersistemas; 1998. p 1 – 4.
2. Anuario Estadístico. Instituto Nacional de Perinatología. Edición 2005
3. Rogowski J. The economics of preterm delivery. J Perinatol 1999; 55: 12 - 14.
4. López A. Causas de inicio del parto pretérmino En: Cabrero L, editor Parto prematuro. Madrid: Medica Panamericana; 2004. p 33-45.
5. Winkler M, Oberpichler A, Tschesche H, Ruck P, Fischer DC, Rath W. Collagenolysis in the lower uterine segment during parturition at term: correlations with stage of cervical dilatation and duration of labor. Am J Obstet Gynecol 1999; 181 (1): 153 – 158.
6. López-Bernal A. Mechanisms of labour – biochemical aspects. Br J Obstet Gynaecol 2003; 110 (Suppl 20): 39 – 45.
7. Parkington HC, Tonta MA, Brennecke SP, Coleman HA. Contractile activity, membrane potential and cytoplasmic calcium in human uterine smooth muscle in the third trimester of pregnancy and during labor. Am J Obstet Gynecol 1999; 181 (6): 1445 – 1451.
8. Roman AS, Pernoll ML. Late pregnancy complications: preterm labor En: De Cherney AH, Nathan L, editores Current obstetric and gynecologic diagnosis and treatment. 9a edición Nueva York: Lange Medical Books; 2003. p 286 – 292.
9. Moutquin JM. Classification and heterogeneity of preterm birth. Br J Obstet Gynaecol 2003; 110: 30 - 33.
10. Lumley J. Defining the problem: the epidemiology of preterm birth. Br J Obstet Gynaecol 2003; 110: 3 - 7.
11. Abbas A, Lichtman A, Pober J. Citocinas En: Abbas A, Lichtman A, Pober J editores Inmunología Celular y Molecular. 2a edición Madrid: Interamericana McGraw Hill; 1995. p 268 – 282.
12. Winkler M. Mediadores de inflamación y prematuridad En: Cabrero L, editor Parto prematuro. Madrid: Medica Panamericana; 2004. p 65 - 75.
13. Lamont R. El papel de la infección en la etiología y predicción del parto pretérmino En: Cabrero L, editor Parto prematuro. Madrid: Medica Panamericana; 2004. p 53-63.

14. Jamie WE, Edwards R, Ferguson R, Duff P. The interleukin-6 174 single nucleotide polymorphism: cervical protein production and the risk of preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol*; 192: 1023 – 1027.
15. Hagberg H, Mallard C, Jacobsson B. Role of cytokines in preterm labour and brain injury. *Br J Obstet Gynaecol*; 112 (Suppl 1): 16 – 18.
16. Andrews W. Cervicovaginal cytokines, vaginal infection, and preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*; 190: 1179.
17. Gómez R, Romero R, Nien J, Chaiworapongsa T, Medina L, Kim Y, et al. A short cervix in women with preterm labor and intact membranes: A risk factor for microbial invasion of the amniotic cavity. *Am J Obstet Gynecol*; 192: 678 - 689.
18. Annells M, Hart P, Mullighan C, Heatley S, Robinson J, Bardy P, et al. Interleukins -1, -4, -6, -10, tumor necrosis factor, transforming growth factor - β , FAS, and mannose-binding protein C gene polymorphisms in Australian women: risk of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*; 191: 2056 - 2067.
19. Leitich H, Bodner-Adler B, Brunbaure M, Kaidler A, Egarter C, Husselin P. Bacterial vaginosis as a risk factor for preterm delivery: a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189: 139 - 147.
20. Genc M, Witkin S, Delaney M, Paraskevas L, Tuomala R, Norwitz E, et al. A disproportionate increase in IL- 1β over IL- 1α in the cervicovaginal secretions of pregnant women with altered vaginal microflora correlates with preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*; 190: 1191 - 1197.
21. Kurkinen-Raëty M, Ruokonen A, Vuopala S, Koskelac M, Rutanen E, Kaërkkaëinen T, et al. Combination of cervical interleukin -6 and -8, phosphorylated insulin-like growth factor-binding protein-1 and transvaginal cervical ultrasonography in assessment of the risk of preterm birth. *Br J Obstet Gynaecol*; 108: 875 – 881.