

Universidade de São Paulo
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

José Augusto Durán Chávez

**Relación entre los niveles de metaloproteinasas MMP-2 y MMP-9 en plasma y
secreción vaginal con el parto prematuro**

Ribeirão Preto

2019

José Augusto Durán Chávez

Relación entre los niveles de metaloproteinasas MMP-2 y MMP-9 en plasma y secreción vaginal con el parto prematuro

Tesis de Doctorado presentada al Programa de Posgraduación de la Facultad de Medicina de Ribeirão Preto de la Universidad de São Paulo, para la obtención del título de Doctor en Ciencias.

**Área de concentración: Ginecología y Obstetricia
– Opción: Biología de la Reproducción
Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Carvalho Cavalli**

Ribeirão Preto

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e investigação, citando a fonte.

Durán Chávez, José Augusto

Relação entre os níveis de metaloproteinases MMP-2 e MMP-9 no plasma e na secreção vaginal e o parto prematuro

228 p. : il. ; 30cm

Tese de doutorado, apresentada a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Ginecologia e Obstetrícia.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Carvalho Cavalli

1. Metaloproteinase 2 em plasma; 2. Metaloproteinase 9 em plasma; 3. Metaloproteinase 2 em secreção vaginal; 4. Metaloproteinase 9 em secreção vaginal; 3. Parto prematuro; 4. Parto prematuro espontâneo.

Hoja de Evaluación

José Augusto Durán Chávez

Relación entre los niveles de metaloproteinasas MMP-2 y MMP-9 en plasma y secreción vaginal
con el parto prematuro

Tesis de Doctorado presentada al Programa de
Posgraduación de la Facultad de Medicina de
Ribeirão Preto de la Universidad de São Paulo, previa
a la obtención del título de Doctor en Ciencias.
Área de concentración: Ginecología y Obstetricia

Aprobado en:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Institución: _____ Firma: _____

Dedicatoria

Este trabajo está dedicado

A **mi esposa** y a **mi hija**, a las dos por igual que son los seres que más amo en esta vida, por ser quienes dan luz y equilibrio a mi existencia, en esta dura profesión, por su paciencia y valentía en este tiempo que tuve que dejarlas solas.

A **mis padres**, por todo el cariño y apoyo con el cual me educaron, para convertirme en un ser humano justo, honesto, leal y trabajador.

A **mi tutor** Prof. Ricardo de Carvalho Cavalli, con todo el respeto, consideración y admiración que ha despertado en mí, por su apoyo permanente y ser un ejemplo de eficiencia, decisión y cariño a sus pacientes.



Agradecimiento

Agradecimiento

A la Universidad Central del Ecuador, centro de educación del cual formo parte, por su apoyo para mi permanencia y formación.

Al Departamento de Ginecología y Obstetricia por este año de incalculable valor, por los conocimientos y experiencias adquiridas.

A los Profesores del Departamento de Ginecología y Obstetricia, por haber visto en todos ellos sin excepción alguna unidad, respeto y preparación para afrontar el trabajo académico y asistencial.

Al Profesor Carlos Grandi y la Profesora Viviane Cunha, por su apoyo desinteresado y la paciencia para lograr desarrollar mi investigación.

A Suleimy Mazin, por su buena voluntad, predisposición al trabajo y su capacidad intelectual, que fue pieza clave para este trabajo.

A Suelen Soares, por su paciencia, apoyo y permanente ayuda desde que inicie este camino de la investigación, hace ya cuatro años.



Sumario

RESUMEN**SUMMARY****RESUMO****LISTA DE FIGURAS****LISTA DE TABLAS****LISTA DE ABREVIATURAS**

1. INTRODUCCION.....	35
1.1. Descripción de la introducción.....	36
1.2. Parto Prematuro.....	36
1.2.1. Definición.....	36
1.2.2. Epidemiología.....	36
1.2.3. Factores de riesgo para parto prematuro.....	37
1.2.4. Clasificación del parto prematuro.....	37
1.3. Fisiología del parto a término.....	38
1.3.1. Modificaciones en el cérvix.....	39
1.3.2. Modificaciones en corion y amnios.....	39
1.3.3. Modificaciones en la placenta.....	39
1.3.4. Modificaciones en el miometrio.....	40
1.3.5. Participación fetal.....	41
1.4. Fisiopatología del parto prematuro.....	41
1.4.1. Inflamación e infección.....	42
1.4.2. Distensión Uterina.....	42
1.4.3. Hemorragia decidual y alteración vascular.....	43
1.4.4. Envejecimiento decidual.....	43
1.4.5. Disrupción de la tolerancia materno fetal.....	43
1.4.6. Disminución de acción de la progesterona.....	44
1.4.7. Activación eje hipotálamo-hipófisis-adrenal materno fetal.....	44
1.4.8. Interacción Génica.....	44
1.5. Metaloproteinasas de la matriz.....	45
1.5.1. Definición.....	45
1.5.2. Estructura de las metaloproteinasas.....	45

1.5.3.	Clasificación de las metaloproteinasas de la matriz.....	47
1.5.3.1.	Las colagenasas.....	47
1.5.3.2.	Las gelatinasas.....	48
1.5.3.3.	Las estromelisinias.....	48
1.5.3.4.	Las matrilisinias.....	49
1.5.3.5.	Las MMP de tipo membrana.....	49
1.5.3.6.	Otras MMP.....	50
1.5.4.	Matriz metaloproteinasa 2 o gelatinasa A, matriz metaloproteinasa 9 o gelatinasa B.....	51
1.5.4.1.	Estructura tridimensional.....	51
1.5.4.2.	Mecanismo de acción de las MMPs.....	55
1.5.4.2.1.	Activación gradual de las MMPs.....	55
1.5.4.2.2.	Activación en la superficie celular de ProMMP-2....	57
1.5.4.2.3.	Clivaje de sustrato por las MMPs.....	58
1.5.4.2.4.	Actividad Biológica generada por clivaje de las MMPs.....	58
1.5.4.2.5.	Inhibidores tisulares de las MMPs.....	59
1.6.	Metaloproteinasas de la matriz en el parto prematuro.....	59
1.6.1.	Metaloproteinasas de la matriz y membranas fetales.....	60
1.6.1.1.	Estructura de las membranas fetales.....	60
1.6.1.2.	MMPs 2 y 9, su efecto en las membranas fetales.....	61
1.6.1.2.1.	Modulación del efecto de las MMPs 2 y 9 en las membranas fetales.....	63
1.6.2.	Metaloproteinasas de la matriz y cuello de útero.....	65
1.6.2.1.	Estructura del cuello de útero.....	65
1.6.2.2.	Las MMPs 2 y 9, su efecto en el cuello de útero.....	66
1.6.3.	Las MMPs y su efecto en el miometrio.....	67
1.6.4.	Las MMPs y su efecto en la placenta.....	68
2.	JUSTIFICACIÓN.....	70
3.	OBJETIVOS.....	72
3.1.	Objetivo general.....	73

3.2.	Objetivos específicos.....	73
4.	PACIENTES Y METODOS.....	74
4.1.	Diseño y área de estudio.....	75
4.1.1.	Estudio de la población y cálculo de la muestra.....	75
4.1.2.	Criterios de inclusión y exclusión.....	76
4.2.	Recopilación de datos.....	78
4.2.1.	Cuestionario prenatal.....	78
4.2.2.	Examen ginecológico.....	79
4.2.3.	Muestra de orina.....	80
4.2.4.	Muestra de sangre venosa.....	80
4.2.5.	Examen de ultrasonido.....	81
4.2.6.	Resultado.....	81
4.3.	Procesamiento y análisis estadístico.....	82
4.3.1.	Variables.....	83
4.3.1.1.	Variables Independientes.....	83
4.3.1.2.	Variables de Confusión.....	83
4.4.	Aspectos éticos.....	83
5.	RESULTADOS.....	84
5.1.	Descripción del análisis de los resultados de la primera sección.....	85
5.1.1.	Análisis parto prematuro en relación a parto a término.....	85
5.1.1.1.	Estadística descriptiva.....	85
5.1.1.2.	Test de normalidad aplicado a los valores de las MMPs.....	89
5.1.1.3.	Elaboración de curvas ROC para los valores de las MMPs....	92
5.1.2.	Estadística analítica, de las MMPs, las características sociodemográficas y clínicas entre parto prematuro y parto a término.....	96
5.1.2.1.	Cálculo de OR crudo.....	96
5.1.2.2.	Cálculo OR ajustado.....	97
5.1.2.3.	Árbol de inferencia condicional.....	105
5.1.2.4.	Valores de test diagnóstico de las MMPs 2 y 9 en plasma.....	110
5.2.	Descripción del análisis de los resultados de la segunda sección.....	113
5.2.1.	Análisis parto prematuro espontáneo en relación a parto a término.....	113

5.2.1.1.	Estadística descriptiva.....	113
5.2.2.	Estadística analítica, de las MMPs, las características sociodemográficas y clínicas entre parto prematuro espontáneo y parto a término.....	117
5.2.2.1.	Cálculo de OR crudo.....	117
5.2.2.2.	Cálculo OR ajustado.....	119
5.2.2.3.	Árbol de inferencia condicional.....	127
5.2.2.4.	Valores de test diagnóstico de las MMPs 2 y 9 en plasma....	131
5.3.	Descripción del análisis de los resultados de la tercera sección.....	133
5.3.1.	Análisis parto prematuro espontáneo en relación a parto prematuro no espontáneo.....	133
5.3.1.1.	Estadística descriptiva.....	133
5.3.2.	Estadística analítica, de las MMPs, las características sociodemográficas y clínicas entre parto prematuro espontáneo y parto prematuro no espontáneo.....	137
5.3.2.1.	Cálculo de OR crudo.....	137
5.3.2.2.	Cálculo OR ajustado.....	139
5.3.2.3.	Valores de test diagnóstico de las MMPs 2 en plasma y 9 en secreción vaginal.....	147
5.4.	Descripción del análisis de los resultados de la cuarta sección.....	148
5.4.1.	Análisis de OR crudo.....	148
5.4.2.	Análisis de OR ajustado.....	150
6.	DISCUSION.....	157
6.1.	MMP-9 en plasma y parto prematuro.....	158
6.2.	MMP-9 en secreción vaginal y parto prematuro.....	165
6.3.	MMP-2 en plasma y parto prematuro.....	166
6.4.	MMP-2 en secreción vaginal y parto prematuro.....	169
6.5.	Edad materna y parto prematuro.....	169
6.6.	Paridad de la madre y parto prematuro.....	170
6.7.	Hábito de fumar y parto prematuro.....	170
6.8.	Longitud cervical menor de 2.5 cm y parto prematuro.....	171
6.9.	Antecedente de parto prematuro y parto prematuro.....	171

6.10. Vaginosis bacteriana y parto prematuro.....	171
6.11. Infección de tracto urinario y parto prematuro.....	173
7. CONCLUSIONES.....	174
8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	176
ANEXOS.....	195
• ANEXO A: Aprobación del Comité de Ética en Investigación del Hospital das Clínicas de la Facultad de Medicina de Ribeirão Preto.....	196
• ANEXO B: Protocolo de investigación para recolección de datos clínicos.....	198
• ANEXO C: Artículo original.....	204

Resumen

DURAN CHAVEZ, J.D. **Relación entre los niveles de metaloproteinasas MMP-2 y MMP-9 en plasma y secreción vaginal con el parto prematuro.** 2019. 228 f. Tesis (Doctorado) – Facultad de Medicina de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

El parto prematuro (PP), es una importante causa de morbi mortalidad en los primeros días de nacimiento, por tanto, justifica entender su fisiopatología, para encontrar métodos clínicos y laboratoriales, que nos permitan su predicción, y por tanto la prevención.

El objetivo de este estudio fue, relacionar los niveles en plasma y secreción vaginal de metaloproteinasas MMP-2 y MMP-9 entre las 20 y 25 semanas de edad gestacional, con el PP en general, el PP espontáneo en relación al parto a término (PA), el PP espontáneo en relación al PP no espontáneo, y establecer si las MMP-2 y MMP-9 pueden utilizarse como predictoras de PP.

Este es un estudio de caso y control con tres análisis, anidado en una cohorte prospectiva; la cohorte se describe en el proyecto temático titulado "Factores etiológicos del parto prematuro y consecuencias de los factores perinatales en la salud infantil: cohortes de nacimiento en dos ciudades brasileñas: BRISA". Se utilizó la base de Ribeirão Preto; por medio de un cuestionario se obtuvo edad, paridad, hábito de fumar y antecedente PP, se recogió muestra de sangre, orina y secreción vaginal, y por último se efectuó ultrasonido, para obtener datos de infección tracto urinario (ITU), vaginosis bacteriana (VB), valores de MMP-2, MMP-9 y longitud cervical, entre las 20 a 25 semanas.

Un total de 1370 madres e hijos formaron parte de la cohorte, se obtuvo 129 PP (9.4%), 70 fueron PP espontáneos (5.1%) y 59 PP no espontáneo o por indicación médica (4.3%). En el primer análisis caso control entre PP y PA, se determinó un incremento del riesgo de PP con: hábito de fumar, antecedente PP, longitud cervical menor a 2.5cm y con valores de MMP-2 plasma bajo 239.4ng/ml, con especificidad (E): 58%, sensibilidad (S): 55%, valor predictivo positivo (VPP): 40%, valor predictivo negativo (VPN): 72%, razón de verosimilitud positivo (LR+):1.33, razón de verosimilitud negativa (LR-):0.76 y valores de MMP-9 plasma sobre 63.25pg/ml, con E:62%, S:65%, VPP:46%, VPN:78%, LR+:1.77, LR-:0.54. En el segundo análisis caso control entre PP espontáneo y PA, se determinó un incremento del riesgo de PP con: hábito de fumar, antecedente PP, longitud cervical menor a 2.5cm y con valores de MMP-2 plasma bajo 239.4ng/ml, con E:58%, S:64%, VPP:29%, VPN:85%, LR+:1.53, LR-:0.61 y valores de MMP-9 plasma sobre 63.25pg/ml, con E:62%, S:62%, VPP:31%, VPN:86%, LR+:1.68, LR-:0.59. En el tercer análisis entre PP

espontáneo y PP no espontáneo, no se evidenció incremento del riesgo de PP con: hábito de fumar, antecedente PP, longitud cervical menor a 2.5cm, pero sí con valores de MMP-2 plasma bajo 239.4 ng/ml, con E:54%, S:64%, VPP:62%, VPN:56%, LR+:1.4, LR-:0.65 y valores de MMP-9 en secreción vaginal sobre 145.1 pg/ml, con E:64%, S:54%, VPP:65%, VPN:58%, LR+:1.58, LR-:0.60.

Los datos del estudio permiten concluir que, los valores MMP-2 en plasma están bajo el punto de corte y MMP-9 en plasma sobre el punto de corte, en pacientes que evolucionaron a PP, el hábito de fumar, el antecedente de PP, la longitud cervical <2.5cm incrementan el riesgo de PP general y PP espontáneo, el valor de MMP-9 en secreción vaginal se encuentra sobre el punto de corte, en pacientes que terminaron en PP espontáneo, al comparar con PP no espontáneo; por último las MMPs por sí solas no son buenos test predictivos para PP.

Palabras Clave: 1. Metaloproteinasa 2 en plasma; 2. Metaloproteinasa 9 en plasma; 3. Metaloproteinasa 2 en secreción vaginal; 4. Metaloproteinasa 9 en secreción vaginal; 3. Parto prematuro; 4. Parto prematuro espontáneo.



Summary

DURAN CHAVEZ, J.D. **Relationship between the levels of metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 in plasma and in vaginal secretion and premature birth.** 2019. 228 f. Tesis (Doctorado) – Facultad de Medicina de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Premature birth (PB) is an important cause of morbidity and mortality during the first days after birth, so that its physiopathology should be understood in order to detect clinical and laboratory methods that would permit its prediction and prevention.

The objective of the present study was relate the levels of the metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 in plasma and in vaginal secretion between 20 and 25 weeks of gestational age with PB in general, with spontaneous PB in relation to term birth (TB), with spontaneous PB in relation to non-spontaneous PB, and to determine whether MMP-2 and MMP-9 can be used as predictors of PB.

This was a case-control study with three analyses nested within a prospective cohort described in the thematic project entitled "Etiological factors of premature birth and consequences of perinatal factors for infant health: birth cohorts in two Brazilian cities: BRISA". The Ribeirão Preto base was used. Maternal age, parity; smoking habit and a PB history were obtained with a questionnaire, blood, urine and vaginal secretion samples were collected, and ultrasound was performed in order to obtain data regarding urinary tract infection (UTI), bacterial vaginosis (BV), MMP-2 and MMP-9 values, and cervical length between 20 and 25 weeks of pregnancy.

The cohort consisted of a total of 1370 mothers and children; 129 PB (9.4%) occurred, 70 were spontaneous PB (5.1%) and 59 non-spontaneous PB or PB due to medical indication (4.3%). In the first case-control analysis between PB and TB, an increase in PB risk was found to be related to: smoking habit, a history of PB, a cervical length of less than 2.5 cm and plasma MMP-2 values below 239.4 ng/ml, with 58% specificity (Sp), 55% sensitivity (S), 40% positive predictive value (PPV), 72% negative predictive value (NPV), 1.33 positive likelihood ratio (LR+), 0.76 negative likelihood ratio, and plasma MMP-9 values above 63.25 pg/ml, with 62% Sp, 65% S, 46% PPV, 78% NPV, 1.77 LR+, and 0.54 LR-.

In the second case-control analysis between spontaneous PB and TB, an increased risk of PB was detected in the presence of: smoking habit, a PB history, a cervical length of less than 2.5 cm and in the presence of plasma MMP-2 values below 239.4 ng/ml, with 58% Sp, 64% S, 29%

PPV, 85% NPV, 1.53 LR+, 0.61 LR- and plasma MMP-9 values above 63.25 pg/ml, with 62% Sp, 62% S, 31% PPV, 86% NPV, 1.68 LR+, and 0.59 LR-.

In the third comparative analysis between spontaneous and non-spontaneous PB, no increase was detected in the risk of PB in relation to smoking habit, a history of PB and cervical length of less than 2.5 cm, although a relationship was detected with plasma MMP-2 levels below 239.4 ng/ml, with 54% SP, 64% S, 62% PPV, 56% NPV, 1.4 LR+, 0.65 LR- and with MMP-9 levels above 145.1 pg/ml in vaginal secretion, with 64% Sp, 54% S, 65% PPV, 58% NPV, 1.58 LR+, and 0.60 LR-.

The present data permit us to conclude that plasma MMP-2 levels are below the cut-off point and plasma MMP-9 levels are above it in patients who progress to PB. Also, the smoking habit, a history of PB and a cervical length <2.5 cm increase the risk of general and spontaneous PB, the MMP-9 level in vaginal secretion is above the cut-off point in patients who have spontaneous PB compared to patients with non-spontaneous PB, and finally MMPs alone do not represent a good predictive test for PB.

Key Words: 1. Plasma metalloproteinase 2; 2. Plasma metalloproteinase 9; 3. Metalloproteinase 2 in vaginal secretion; 4. Metalloproteinase 9 in vaginal secretion; 3. Premature birth; 4. Spontaneous premature birth.

Resumo

DURAN CHAVEZ, J.D. **Relação entre os níveis de metaloproteinasas MMP-2 e MMP-9 no plasma e na secreção vaginal e o parto prematuro.** 2019. 228 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

O parto prematuro (PP) é causa importante de morbimortalidade nos primeiros dias após o nascimento e, portanto, é justificado entender a sua fisiopatologia para encontrar métodos clínicos e laboratoriais que nos permitam a sua predição e prevenção.

O presente estudo objetivou relacionar os níveis das metaloproteinasas MMP-2 e MMP-9 no plasma e na secreção vaginal entre 20 e 25 semanas de idade gestacional com o PP em geral, o PP espontâneo em relação ao parto a termo (PT), o PP espontâneo em relação ao PP não espontâneo, e estabelecer se as MMP-2 e MMP-9 podem ser utilizadas como preditoras de PP.

Trata-se de estudo caso-controle com três análises, aninhado em uma coorte prospectiva descrita no projeto temático intitulado "Fatores etiológicos do parto prematuro e consequências dos fatores perinatais para a saúde infantil: coortes de nascimento em duas cidades brasileiras: BRISA". Foi utilizada a base de Ribeirão Preto; dados referentes a idade, hábito de fumar e antecedentes de PP foram obtidos mediante um questionário, amostras de sangue, urina e secreção vaginal foram obtidas e ultrassom foi realizado visando obter dados de infecção do trato urinário (ITU), vaginose bacteriana (VB), valores de MMP-2 e MMP-9 e comprimento cervical, entre 20 a 25 semanas.

Um total de 1370 mães e filhos foram incluídos na coorte; houve 129 PP (9.4%), 70 foram PP espontâneos (5.1%) e 59 PP não espontâneos ou devidos a indicação médica (4.3%). Na primeira análise caso-controle entre PP e PT, foi observado um aumento de risco de PP na presença de: hábito de fumar, antecedentes de PP, comprimento cervical menor de 2.5 cm e valores plasmáticos de MMP-2 abaixo de 239.4 ng/ml, com especificidade (E): 58%, sensibilidade (S): 55%, valor preditivo positivo (VPP): 40%, valor preditivo negativo (VPN): 72%, razão de verossimilhança positiva (LR+):1.33, razão de verossimilhança negativa (LR-):0.76 e valores plasmáticos de MMP-9 acima de 63.25 pg/ml, com E:62%, S:65%, VPP:46%, VPN:78%, LR+:1.77, LR-:0.54. Na segunda análise caso-controle entre PP espontâneo e PT, foi observado um aumento do risco de PP na presença de: hábito de fumar, antecedentes de PP, comprimento cervical menor de 2.5 cm e valores plasmáticos de MMP-2 abaixo de 239.4 ng/ml, com E:58%, S:64%, VPP:29%, VPN:85%, LR+:1.53, LR-:0.61 e valores plasmáticos de MMP-9 acima de 63.25 pg/ml, com E:62%, S:62%, VPP:31%, VPN:86%, LR+:1.68, LR-:0.59. Na terceira análise

entre PP espontâneo e PP não espontâneo, não foi evidenciado aumento do risco de PP na presença de: hábito de fumar, antecedentes de PP, comprimento cervical menor de 2.5 cm, mas sim na presença de valores plasmáticos de MMP-2 abaixo de 239.4 ng/ml, com E:54%, S:64%, VPP:62%, VPN:56%, LR+:1.4, LR-:0.65 e na presença de valores de MMP-9 na secreção vaginal acima de 145.1 pg/ml, com E:64%, S:54%, VPP:65%, VPN:58%, LR+:1.58, LR-:0.60.

Os dados deste estudo nos permitem concluir que os valores plasmáticos de MMP-2 estiveram abaixo do ponto de corte e os valores plasmáticos de MMP-9 estiveram acima do ponto de corte em pacientes que evoluíram para PP. Também, o hábito de fumar, antecedentes de PP e comprimento cervical <2.5 cm aumentaram o risco de PP geral e PP espontâneo, os valores de MMP-9 na secreção vaginal estiveram abaixo do ponto de corte em pacientes que evoluíram para PP espontâneo em comparação com o PP não espontâneo; por último, as MMPs por si mesmas não representam um bom teste preditivo de PP.

Palavras Chave: 1. Metaloproteinase 2 em plasma; 2. Metaloproteinase 9 em plasma; 3. Metaloproteinase 2 em secreção vaginal; 4. Metaloproteinase 9 em secreção vaginal; 3. Parto prematuro; 4. Parto prematuro espontâneo.



Lista de Figuras

Figura 1: Estructura de las Metaloproteinasas.....	47
Figura 2: Estructura 3 Dimensiones de las MMPs.....	54
Figura 3: Activación gradual de las proMMPs.....	56
Figura 4: Modelo de activación de proMMP-2 por MT1-MMP y TIMP-2.....	57
Figura 5: Representación esquemática de las membranas fetales y los sitios de producción de MMPs y TIMPs.....	61
Figura 6: Box-plot MMP-2 en plasma, en parto prematuro y parto a término.....	87
Figura 7: Box-plot MMP-9 en plasma, en parto prematuro y parto a término.....	87
Figura 8: Box-plot MMP-2 en secreción vaginal, en parto prematuro y parto a término.....	88
Figura 9: Box-plot MMP-9 en secreción vaginal, en parto prematuro y parto a término.....	88
Figura 10: Histograma y test de normalidad de MMP-2 en plasma.....	89
Figura 11: Histograma y test de normalidad de MMP-2 en secreción vaginal.....	90
Figura 12: Histograma y test de normalidad MMP-9 en plasma.....	90
Figura 13: Histograma y test de normalidad MMP-2 en secreción vaginal.....	91
Figura 14: Curva operador- receptor para las concentraciones en plasma de MMP-2 para la predicción de parto prematuro.....	92
Figura 15: Curva operador- receptor para las concentraciones en secreción vaginal de MMP-2 para la predicción de parto prematuro.....	93
Figura 16: Curva operador- receptor para las concentraciones en plasma de MMP-9 para la predicción de parto prematuro.....	94
Figura 17: Curva operador- receptor para las concentraciones en secreción vaginal de MMP-9 para la predicción de parto prematuro.....	95
Figura 18: Árbol de inferencia condicional incluyendo: MMPs y longitud cervical, en relación a parto prematuro	106
Figura 19: Árbol de inferencia condicional incluyendo: MMPs, longitud cervical, edad, paridad, hábito de fumar, VB, ITU; en relación a parto prematuro	107
Figura 20: Árbol de inferencia condicional incluyendo: MMPs, longitud cervical, edad, paridad, hábito de fumar; en relación a parto prematuro.....	109
Figura 21: Árbol de inferencia condicional incluyendo: MMPs, longitud cervical, edad, paridad, hábito de fumar, VB, ITU, antecedente de PP; en relación a parto prematuro.....	110
Figura 22: Box-plot MMP-2 en plasma, en parto prematuro espontáneo y parto a término.....	115

Figura 23: Box-plot MMP-2 en secreción vaginal, en parto prematuro espontáneo y parto a término.....	116
Figura 24: Box-plot MMP-9 en plasma, en parto prematuro espontáneo y parto a término.....	116
Figura 25: Box-plot MMP-9 en secreción vaginal, en parto prematuro espontáneo y parto a término.....	117
Figura 26: Árbol de inferencia condicional incluyendo: MMPs y longitud cervical, en parto prematuro espontáneo.....	128
Figura 27: Árbol de inferencia condicional incluyendo: MMPs, longitud cervical, edad, paridad, hábito de fumar, VB, ITU, en parto prematuro espontáneo.....	129
Figura 28: Árbol de inferencia condicional incluyendo: MMPs, longitud cervical, edad, paridad, hábito de fumar, en parto prematuro espontáneo.....	129
Figura 29: Árbol de inferencia condicional incluyendo: MMPs, longitud cervical, edad, paridad, hábito de fumar, VB, ITU, antecedente de PP; en parto prematuro espontáneo.....	130
Figura 30: Box-plot MMP-2 en plasma, en parto prematuro espontáneo y parto prematuro no espontáneo.....	135
Figura 31: Box-plot MMP-2 en secreción vaginal, en parto prematuro espontáneo y parto prematuro no espontáneo.....	136
Figura 32: Box-plot MMP-9 en plasma, en parto prematuro espontáneo y parto prematuro no espontáneo.....	136
Figura 33: Box-plot MMP-9 en secreción vaginal, en parto prematuro espontáneo y parto prematuro no espontáneo.....	137
Figura 34: Mecanismos para la regulación de la progesterona/PR del reposo uterino durante el embarazo a la contractilidad uterina en el parto prematuro y parto a término.....	164



Lista de Tablas

Tabla 1 - Metaloproteinasas, tipo de enzima y cromosoma de localización.....	50
Tabla 2 - Afinidad de sustrato de las distintas MMPs relacionadas con parto prematuro.....	62
Tabla 3 - Citoquinas que regulan la expresión de MMP en amnios y corion.....	64
Tabla 4 - Comparación de las características maternas gestacionales, ultrasonográficas, laboratoriales entre parto prematuro y parto a término.....	85
Tabla 5 - Comparación medidas tendencia central y de dispersión de las MMPs en parto prematuro y parto a término.....	86
Tabla 6 - Concentración de MMPs en plasma y secreción vaginal, en parto prematuro y parto a término	91
Tabla 7 - OR crudo de características sociodemográficas, clínicas y MMPs de parto prematuro en relación a parto a término.....	96
Tabla 8 - OR ajustado de características sociodemográficas, clínicas y MMPs de parto prematuro en relación a parto a término.....	98
Tabla 9 - OR ajustado, de MMP-9 en plasma de parto prematuro en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.....	99
Tabla 10 - OR ajustado, de MMP-9 en plasma (segundo valor de corte) de parto prematuro en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.....	101
Tabla 11 - OR ajustado, de MMP-9 en secreción vaginal de parto prematuro en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.....	102
Tabla 12 - OR ajustado, de MMP-2 en plasma de parto prematuro en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.....	103
Tabla 13 - OR ajustado, de MMP-2 en secreción vaginal de parto prematuro en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.....	104
Tabla 14 - Valores de test diagnóstico de MMP-9 en plasma, valor de corte 119.3 pg/ml, de parto prematuro en relación a parto a término.....	111
Tabla 15 - Valores de test diagnóstico de MMP-9 en plasma, valor de corte 63.25 pg/ml, de parto prematuro en relación a parto a término.....	111
Tabla 16 - Valores de test diagnóstico de MMP-2 en plasma valor de corte 239.4 ng/ml, de parto prematuro en relación a parto a término.....	112

Tabla 17 - Comparación de las características maternas gestacionales, ultrasonográficas y laboratoriales, entre parto prematuro espontáneo y parto a término.....	113
Tabla 18 - Comparación medidas tendencia central y de dispersión de las MMPs, de parto prematuro espontáneo y parto a término.....	114
Tabla 19 - Concentración de MMPs en plasma y secreción vaginal, en parto prematuro espontáneo y parto a término.....	115
Tabla 20 - OR crudo de características sociodemográficas, clínicas y MMPs de PP espontáneo en relación a PA.....	118
Tabla 21 - OR ajustado, de características sociodemográficas, clínicas y MMPs de parto prematuro espontáneo en relación a parto a término.....	119
Tabla 22 - OR ajustado, de MMP-9 en plasma de parto prematuro espontáneo en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.....	121
Tabla 23 - OR ajustado, de MMP-9 en plasma (segundo valor de corte) de parto prematuro espontáneo en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.....	122
Tabla 24 - OR ajustado, de MMP-9 en secreción vaginal de parto prematuro espontáneo en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.....	124
Tabla 25 - OR ajustado, de MMP-2 en plasma de parto prematuro espontáneo en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.....	125
Tabla 26 - OR ajustado, de MMP-2 en secreción vaginal de parto prematuro espontáneo en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.....	126
Tabla 27 - Valores de test diagnóstico de MMP-9 en plasma, valor de corte 119.3pg/ml, de parto prematuro espontáneo en relación a parto a término.....	131
Tabla 28 - Valores de test diagnóstico de MMP-9 en plasma, valor de corte 63.25pg/ml, de parto prematuro espontáneo en relación a parto a término.....	131
Tabla 29 - Valores de test diagnóstico de MMP-2 en plasma valor de corte 239.4ng/ml, de parto prematuro espontáneo en relación a parto a término.....	132
Tabla 30 - Comparación de las características maternas gestacionales, ultrasonográficas y laboratoriales, entre parto prematuro espontáneo y parto prematuro no espontáneo.....	133
Tabla 31 - Comparación medidas tendencia central y de dispersión de las MMPs, entre parto prematuro espontáneo y parto prematuro no espontáneo.....	134

Tabla 32 - Concentración de MMPs en plasma y secreción vaginal, en parto prematuro espontáneo y parto prematuro no espontáneo.....	135
Tabla 33 - OR crudo, de características sociodemográficas, clínicas y MMPs de parto prematuro espontáneo en relación a parto prematuro no espontáneo.....	138
Tabla 34 - OR ajustado, de características sociodemográficas, clínicas y MMPs de parto prematuro espontáneo en relación a parto prematuro no espontáneo.....	139
Tabla 35 - OR ajustado, de MMP-9 en plasma de parto prematuro espontáneo en relación a parto prematuro no espontáneo, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.....	141
Tabla 36 - OR ajustado, de MMP-9 en secreción vaginal de parto prematuro espontáneo en relación a parto prematuro no espontáneo, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.....	143
Tabla 37 - OR ajustado, de MMP-2 en plasma de parto prematuro espontáneo en relación a parto prematuro no espontáneo, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales	144
Tabla 38 - OR ajustado, de MMP-2 en secreción vaginal de parto prematuro espontáneo en relación a parto prematuro no espontáneo, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales	145
Tabla 39 - Valores de test diagnóstico de MMP-9 en secreción vaginal, valor de corte 63.25 pg/ml, de parto prematuro espontáneo en relación a parto prematuro no espontáneo.....	147
Tabla 40 - Valores de test diagnóstico de MMP-2 en plasma valor de corte 239.4 ng/ml, de parto prematuro espontáneo en relación a parto prematuro no espontáneo.....	147
Tabla 41 - Comparación ORs crudos, de MMPs de parto prematuro y parto prematuro espontaneo con relación a parto a término y ORs crudos, de MMPs de parto prematuro espontáneo con relación a parto prematuro no espontáneo.....	149
Tabla 42 - Comparación ORs ajustados, de MMPs de parto prematuro y parto prematuro espontaneo con relación a parto a término y ORs ajustados, de MMPs de parto prematuro espontáneo con relación a parto prematuro no espontáneo.....	151
Tabla 43 - Comparación OR ajustados, de MMP-9 en plasma de parto prematuro y parto prematuro espontaneo con relación a parto a término y OR ajustado, de MMP-9 en plasma de parto prematuro espontáneo con relación a parto prematuro no espontáneo.....	152

Tabla 44 - Comparación OR ajustados, de MMP-2 en plasma de parto prematuro y parto prematuro espontaneo con relación a parto a término y OR ajustado, de MMP-2 en plasma de parto prematuro espontáneo con relación a parto prematuro no espontáneo.....154

Tabla 45 - Comparación OR ajustados, de MMP-9 en secreción vaginal de parto prematuro y parto prematuro espontaneo con relación a parto a término y OR ajustado, de MMP-9 en secreción vaginal de parto prematuro espontáneo con relación a parto prematuro no espontáneo.....155



Lista de Abreviaturas

ADAM17: Metalopeptidasa dominio 17

BA: Bacteriuria asintomática

BP-CRH: Proteína ligadora de CRH

CCL2: quimiocina C-C ligando 2

COX2: ciclooxigenasa 2

CRH: Hormona liberadora de corticotropina

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

ELISA: Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas

ER-alfa: Receptor de estrógeno alfa

ER-2: receptor de estrógeno 2

GPN: Genomic and Proteomic Network for Preterm Birth Research

HC-FMRPUSP: Hospital das Clínicas de la Facultad de Medicina de Ribeirão Preto de la Universidad de São Paulo

IL: interleucina

IL-1b: Interleucina 1 beta

kDa: kilo dalton

LR: Razón de verosimilitud

miR-200: micro RNA 200

MMP: Metaloproteínasa

ng/ml: nanogramo por mililitro

NICHD: Eunice Kennedy Shiver National Institute of Child Health and Human Development

PA: parto a término

PE2: Prostaglandina E2

PF2a: Prostaglandina F2 alfa

PGDH: Prostaglandina deshidrogenasa

pg/ml: picogramo por mililitro

PP: Parto prematuro

PR-A: receptor de progesterona A

PR-B: receptor de progesterona B

proMMP: pro metaloproteinasa

SDHEA: sulfato de dehidroepiandrosterona

TGF- β 1: Factor de crecimiento transformador beta 1

TIMP: Inhibidores tisulares de metaloproteinasas

TLRs: receptores tipo Toll

TNF-a: factor de necrosis tumoral alfa

VB: vaginosis bacteriana



1. Introducción

1.1. Descripción de la introducción

El análisis de la introducción lo dividiremos en tres partes, en la primera abordaremos el PP, en la segunda las MMPs y en la tercera integraremos la relación específica entre las MMP-2 y MMP-9 con el PP.

1.2. Parto prematuro

1.2.1. Definición

El PP se define como el nacimiento entre 20 0/7 semanas de gestación y 36 6/7 semanas de gestación (ACOG,2016)

1.2.2. Epidemiología

La tasa global de PP esta alrededor del 9.6%, en los países desarrollados se encuentra en el 7.5% y en los países subdesarrollados alrededor del 12.5%, el continente con la tasa más baja de PP es Europa con un 6.2% y en contraste África el mayor con 11.9%, América latina y el caribe tienen una tasa del 8.1%, América del sur en general presenta un 7.9% ,América del Norte excluyendo México presenta un 10.6%. La región con el mayor porcentaje del mundo es el sur de África con 17.5%, y la más baja es Asia central y oriental con 3.8%. La carga del parto prematuro se concentra desproporcionadamente en África y Asia, donde ocurre aproximadamente el 85% de todos los nacimientos prematuros (31% y 54%, respectivamente), en contraste, alrededor del 7,4% de estos nacimientos ocurren en Europa y América del Norte juntos. Como se mencionó, hay tasas muy altas en América del Norte y en África, pero la carga en términos de números absolutos afecta desproporcionadamente a los países en desarrollo (BECK et al.,2010).

En América latina, el porcentaje de prematuros por cada cien nacimientos con el valor más alto, se encuentra en Costa Rica con 13.6% seguido de cerca por El Salvador y Honduras con valores superiores al 12%, los porcentajes más bajos los tiene Cuba y Ecuador con 6.4 y 5.1% respectivamente; en Brasil está en el 9.2% (MENDOZA et al.,2016).

Según otros autores en Brasil entre 2000 y 2011, la prevalencia de prematuridad alcanzó el 11,7% (MATIJASEVICH et al, 2013); según los resultados del estudio multicéntrico de investigación de prematuridad, la prevalencia de PP fue del 12,3% (PASSINI JR et al, 2014).

La tasa de mortalidad en los primeros cinco días de vida entre 2010 al 2015 fue del 2.4 por cada mil nacidos vivos en el estado de Sao Paulo y 3.4 en Mato Grosso del Sur, que correspondió este último al valor más alto (MENDES et al.,2019).

1.2.2.1. Factores de riesgo para parto prematuro

Muchos factores han sido relacionados con el PP, infecciosos, no infecciosos relacionados con el aparato genital o no; características maternas: antecedentes familiares de PP, bajo nivel socioeconómico, nivel educativo bajo, extremos en la edad materna, raza afroamericana, estrés, depresión, uso de tabaco, alcohol y drogas, bajo índice de masa corporal materna; infecciones (genitourinarias o extra genitales: clamidia, gonococo, tricomonas vaginalis, sífilis, VB, pielonefritis, bacteriuria asintomática, neumonía, apendicitis aguda), enfermedad periodontal, anomalías uterinas, historia de procedimientos de escisión cervical; antecedentes reproductivos: PP previo, nacido muerto previo, aborto inducido; características actuales de la gestación: sangrado vaginal por placenta previa o desprendimiento placentario, uso de tecnologías de reproducción asistida, gestación múltiple, polihidramnios, oligohidramnios, cuello de útero corto, cirugía abdominal en el segundo y tercer trimestre, patología de tiroides, asma, diabetes, hipertensión(GOLDENBERG et al.,2008; FREY;KLEBANOFF,2015).

1.2.3. Clasificación del parto prematuro

Los PP podemos clasificarlos como: espontáneos o no espontáneos denominados también, iatrogénicos o por indicación médica, el 70% son espontáneos ocasionados por tres causas: inicio espontáneo de labor de parto, ruptura prematura pretérmino espontánea de membranas amnióticas e insuficiencia cervical; los iatrogénicos pueden ser debidos a múltiples causas maternas y fetales (GOLDENBERG et al.,2008).

Con esta simple clasificación se puede generar confusión, muchas de las condiciones que son indicaciones de PP, también son causa al mismo tiempo, como por ejemplo la restricción de crecimiento intrauterina (BUKOWSKI et al.,2001; MORKEN; KALLEN; JACOBSSON,2006).

Por estas limitaciones se han propuesto clasificaciones relacionadas al fenotipo el cual es definido como las características bioquímicas y físicas maternas, fetales y/o de placenta que pueden llevar o están presentes el momento de un PP (KRAMER et al., 2012; VILLAR et al.,2012; MANUCK et al.,2015), indicando que un fenotipo puede tener varias etiologías y en adición un caso particular puede tener varios fenotipos.

La Global Alliance to Prevent Prematurity and Stillbirth (GAPPS) group y la International fetal and Newborn Growth Consortium for the 21 st Century (Intergrowth-21st) publicó en el 2012 una propuesta de clasificación fenotípica (VILLAR et al.,2012) y lo dividió en cinco grupos: 1. Condiciones maternas significativas, 2. Condiciones fetales significativas, 3. Condiciones patológicas placentarias, 4. Signos de inicio de parto (acortamiento cervical, contracciones, ruptura de membranas, sangrado) y 5. Vía de parto.

Otra clasificación alternativa fue definida por la NICHD y la GPN (MANUCK et al.,2015) esta se diferencia de la anterior en que clasifica a los PPs espontáneos, excluyendo los por indicación médica y gemelares, se identificaron nueve potenciales fenotipos: 1. Infección/inflamación, 2. Hemorragia decidual, 3. Estrés materno, 4. Insuficiencia cervical, 5. Distensión uterina, 6. Disfunción placentaria, 7. Ruptura prematura de membranas, 8. Comorbilidades maternas y 9. Factores familiares. Estas clasificaciones han sido aplicadas en estudios de cohorte, pero todavía se requieren validaciones adicionales en distintos tipos de poblaciones y en estudios de investigación enfocándose en los mecanismos de trabajo de PP.

1.3. Fisiología del parto a término

Los signos y síntomas que la paciente presenta como inicio de un parto son: 1. Contracciones uterinas dolorosas y 2. Modificaciones cervicales, que son el resultado final de múltiples cambios producidos semanas antes, denominado proceso de parto, el cual lo dividimos en tres procesos:1. Activación del corion y amnios, 2. Activación y maduración del cérvix y 3. Activación del miometrio (ESPLIN, 2014).

Estos procesos de activación incluyen la integración de otras estructuras, las cuales vamos a analizar: cérvix, corion, amnios, placenta, miometrio y feto.

1.3.1. Modificaciones en el cérvix

El cuello del útero sufre un proceso de remodelación durante el embarazo, que cumple cuatro pasos: ablandamiento, maduración, dilatación y reparación (WORD et al.,2007). La fase de maduración cervical se debe, a un cambio de proporción de esteroides con disminución de progesterona e incremento de estradiol y relaxina, junto con esto un aumento de glucosaminoglicanos e hidratación del tejido; la estructura del cuello y su firmeza es debida a los enlaces cruzados de las fibrillas de colágeno Tipo I y III que al hidratarse las hacen más sensibles a las enzimas de colágeno (OSMERS et al.,1993; TIMMONS; AKINS; MAHENDRO,2010).

La degradación del colágeno que forma parte de la matriz extracelular, es debido a las MMPs que son producidas en el cérvix, corion, amnios, decidua y células inmunes que han migrado al estroma cervical, incrementando la producción de citocinas y prostaglandinas, dentro de un proceso inflamatorio no infeccioso (GOLDMAN et al.,2003; TORNBLUM et al.,2005).

1.3.2. Modificaciones en corion y amnios

Se produce un incremento en la producción de prostaglandinas debido a un incremento de la actividad de la COX 2 y una disminución de la actividad de la PGDH producida en el corion, esto determina un incremento de la PE2 la cual tiene una importante actividad proinflamatoria, los niveles incrementados de CRH placentario y cortisol estimulan a la COX 2 y PE2, la progesterona por intermedio de su receptor PR-B promueve la activación de PGDH, sin embargo los receptores de glucocorticoides y PR-A se elevan a corto plazo y podrían también inhibir la PGDH. Además, existe un incremento de varias MMPs en el amnios, corion y decidua las cuales debilitan las membranas y pueden llevar a ruptura, estas MMPs son estimuladas por PE2 y CRH (CHALLIS; SMITH,2001; CARVAJAL et al.,2001; WEISS; GOLDMAN; SHALEV,2007; LI et al.,2013).

1.3.3. Modificaciones en la placenta

La placenta es un órgano que produce compuestos con acciones: autocrina, paracrina y endocrina, la CRH placentaria se incrementa al inicio del parto, esto es debido a, maduración del eje hipotálamo hipófisis adrenal, el cual produce un incremento de la producción de CRH placentaria por retroalimentación positiva con el cortisol fetal y disminución de la proteína ligadora de CRH, la CRH puede potenciar los efectos de la oxitocina y las prostaglandinas favoreciendo la contractilidad uterina (LINTON et al.,1993; SMITH,2007).

En el final del embarazo existe un incremento en la producción de estrógeno y una disminución funcional de progesterona, esto es debido a un cambio en la expresión de los receptores, PR-B es el mediador primario de efecto de la progesterona, que inhibe la producción de proteínas asociadas a la contracción como: receptor de oxitocina, prostaglandina y uniones gap; y la PR-A reprime la actividad de PR-B. En el parto existe un incremento en la relación miometrial de PR-A/PR-B lo que determina un efecto disminuido de la progesterona (KASTNER et al.,1990; BENEDETTO et al., 1994; MCLEAN et al.,1995).

El incremento de SDHEA fetal es debido a la madurez del eje, este SDHEA es aromatizado a estrógeno en la placenta, el cual mediado por su receptor ER-alfa tiene su efecto en el miometrio y otros tejidos, la expresión de este receptor es inhibido por PR-B, como en el embarazo existe un incremento de PR-A, esto determina una activación del ER-alfa e incremento de la actividad estrogénica en miometrio con la expresión de proteínas asociadas a la contracción como la COX 2 y el incremento de la sensibilidad de los receptores a la acción de la oxitocina (MESIANO; WELSH,2007). Las prostaglandinas, noradrenalina, acetilcolina, angiotensina II, arginina, vasopresina e interleucina-1 estimulan la secreción de CRH de los cultivos placentarios; la progesterona y el óxido nítrico disminuyen la CRH (PETRAGLIA; SUTTON; VALE,1989; PETRAGLIA ET AL.,1990).

1.3.4. Modificaciones en el miometrio

La activación del miometrio tiene como objetivo lograr una contracción fuerte, regular y coordinada, para lo cual se deben sintetizar proteínas que respondan a los mensajes, se ha dividido a la activación en cuatro fases.

La fase 0 se refiere a un período de quiescencia, los inhibidores como la progesterona, la prostaciclina, la relaxina mantienen al miometrio inactivo. Fase 1 de Activación, en respuesta a la

estimulación del estrógeno, las proteínas asociadas a la contracción incrementan; como resultado de los cambios que ocurrieron durante la fase de activación, el útero está preparado para recibir mensajes estimulantes y, en respuesta, crear una contracción. Las uniones gap, conectando miofibrillas y la producción local de prostaglandinas, que actúan de forma paracrina para estimular, las células miometriales permiten la sincronía eléctrica dentro del miometrio. Fase 2 se refiere a la estimulación del miometrio, el cual contiene poca inervación, la regulación de la contracción se realiza principalmente por medios humorales; durante esta fase la PE2, PF2a, y la oxitocina estimulan contracciones regulares. Fase 3 de involución mediada por la oxitocina (NORWITZ; ROBINSON; CHALLIS,1999; SMITH,2007).

1.3.5. Participación fetal

Al madurar el eje hipotálamo hipófisis adrenal, se incrementa la producción de CRH en el hipotálamo, el cual libera hormona cortico tropa de la adenohipófisis, que actúa en la corteza adrenal, liberando cortisol, el cual favorece la maduración fetal. En el líquido amniótico se produce activación de los macrófagos que favorece el proceso inflamatorio presente en las membranas, cérvix y miometrio (YOON et al.,1998; GIBB; CHALLIS,2002).

Todas estas participaciones, producen finalmente modificaciones cervicales con dilatación y borramiento y contracciones uterinas regulares que permiten el parto.

1.4. Fisiopatología del parto prematuro

Estos cambios descritos anteriormente, se producen en el parto a término normal, en la prematuridad existen los siguientes mecanismos que pueden activar esos eventos:

1.Inflamación e infección, 2. Distensión uterina, 3. Hemorragia decidual y alteración vascular, 4. Envejecimiento decidual, 5. Disrupción de la tolerancia materno fetal, 6. Disminución de acción de la progesterona, 7. Activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal materno fetal, y por último 8. Interacción génica.

1.4.1. Inflamación e infección

Los microorganismos y sus productos, pueden llegar por vía ascendente como en la VB o hematológica como en la enfermedad periodontal y que son detectados por TLRs, que inducen la producción de quimiocinas IL-8, y C-C ligando 2 CCL2, citocinas como: IL-1b y TNF-a, prostaglandinas y proteínas que conducen a la activación de la vía común del parto (ROMERO; DEY; FISHER,2014).

La infección intra amniótica produce: factor de necrosis tumoral alfa, IL-1b que inducen la producción de MMPs, IL-6, IL-8 que degradan la matriz extracelular, el factor de necrosis tumoral induce la producción de prostaglandinas y endotelina, que ocasionan contracciones uterinas y modificaciones cervicales con o sin ruptura de membranas; los PP antes de las 30 semanas en más del 50% son consecuencia de infección ascendente (LEI et al.,1996;LOCKWOOD; KUCZYNSKI,1998; CHALLIS et al.,2001).

La razón por la cual la misma infección como la VB pueda producir PP en unas pacientes y en otras no, tiene mucha relación con la interacción génica y medio ambiente (ROMERO; DEY; FISHER,2014).

Para que las bacterias asciendan, juega un papel importante los esteroides que permiten un incremento del glucógeno en el epitelio vaginal, y estos carbohidratos son fundamentales para la adherencia de los microorganismos; en el lado del patógeno, por ejemplo: Estreptococo del Grupo B participa en la actividad hemolítica y citolítica requerida para la infección ascendente relacionada con el PP (ROMERO; DEY; FISHER,2014).

Estudios recientes que utilizan una combinación de cultivo y técnicas moleculares sugieren que la inflamación intra amniótica asociada con el trabajo de PP espontáneo se produce en ausencia de microorganismos demostrables, lo que indica una inflamación intra amniótica estéril (ROMERO; DEY; FISHER,2014).

1.4.2. Distensión Uterina

La distensión anormal del útero como en el caso de embarazo gemelar y polihidramnios, promueve la expresión de puentes de unión, receptores de oxitocina, prostaglandinas y la distinta expresión de genes en el corión y amnios. En el laboratorio se ha logrado determinar que la

distensión de membranas permite expresar genes pro inflamatorios como IL-8 (NEMETH et al.,2000; KORITA et al.,2002). En el plasma materno existe un incremento de IL-1b, TNF-a, IL-8, e IL-6 en relación con el estiramiento del miometrio, el cual sería un pulso inflamatorio, que desencadenaría labor de parto. (ROMERO; DEY; FISHER,2014).

1.4.3. Hemorragia decidual y alteración vascular

En el sangrado decidual, se activa la cascada de la coagulación que produce trombina, la cual se une a receptores miometriales que provocan contracción y también favorecen la degradación de la matriz extracelular en las membranas corio amnióticas, predisponiendo a la ruptura (LOCKWOOD et al.,1996; ELOVITZ et al.,2000; ROMERO; DEY; FISHER,2014).

Aproximadamente el 30% de los pacientes con trabajo de PP tienen lesiones placentarias consistentes con sub perfusión vascular materna, y un número similar tiene falla en la transformación fisiológica de los segmentos miometriales de las arterias espirales, similar a lo que ocurre en la preeclampsia (ROMERO; DEY; FISHER,2014).

1.4.4. Envejecimiento decidual

La decidualización es una extensa proliferación y diferenciación de las células del estroma uterino en células especializadas llamadas células deciduales. La proteína supresora de tumores p53 desempeña un papel importante en el crecimiento decidual, y su eliminación provoca un fracaso de la implantación o, si se establece el embarazo, decidualización inadecuada. La senescencia decidual prematura se ha implicado en el fracaso de la implantación, la muerte fetal y el PP; la evidencia de senescencia decidual se ha demostrado adyacente a la placa basal de la placenta en casos de PP, pero no en mujeres que han tenido PA (ROMERO; DEY; FISHER,2014).

1.4.5. Disrupción de la tolerancia materno fetal

La tolerancia inmunológica debe estar presente para un embarazo exitoso; la corioamnionitis crónica, se caracteriza por la infiltración de células T maternas en el cori amnios con apoptosis del trofoblasto que es similar al rechazo de aloinjerto, la sensibilización materna a

los antígenos leucocitarios humanos fetales se encuentra con frecuencia en pacientes con corioamnionitis crónica y se acompaña de depósito de complemento C4d en el endotelio de la vena umbilical, además en la corio amnionitis crónica se ha observado una forma de inflamación sistémica fetal caracterizada por la sobreexpresión de quimiocinas de células T, favoreciendo la respuesta inflamatoria y el PP (KIM et al.,2010; ELSHIRE et al.,2011;LEE et al.,2013; WEGORZEWSKA et al.,2014).

1.4.6. Disminución de acción de la progesterona

La progesterona tiene efectos en cada componente de la vía común del parto, esta promueve la quietud miometrial al reducir la expresión de proteínas asociadas a la contracción y citocinas/quimiocinas inflamatorias: IL-1, IL-8 y CCL2, el incremento de expresión miometrial de miR-200 contrarresta muchas reacciones de la progesterona, lo que aumenta su catabolismo e induce la expresión de citocinas/quimiocinas proinflamatorias y COX2. La progesterona inhibe la apoptosis sobre la decidua y las membranas cori amnióticas y atenúa la expresión y actividad de MMPs inducida por citoquinas (ROMERO; DEY; FISHER,2014).

1.4.7. Activación eje hipotálamo-hipófisis-adrenal materno fetal

El estrés materno y fetal puede determinar incremento en la síntesis de CRH tanto en hipotálamo como en corion, amnios, placenta y decidua, este CRH estimula la producción de prostaglandinas, que por medio de MMPs intervienen en la remodelación de la matriz extracelular; también por incremento de CRH se produce SDHEA cortico adrenal, que es metabolizado a estrógeno, que permite un incremento de proteínas relacionadas con la contracción (LOCKWOOD; KUCZYNSKI,1998; CHALLIS et al.,2001).

1.4.8. Interacción Génica

Si partimos del antecedente que existen pacientes que tienen mayor probabilidad de PP, entendemos que debe existir un genotipo específico incluyendo los polimorfismos que le permitan a ese paciente en particular, responder de manera diferente a un mismo estímulo medioambiental

(ESPLIN,2014); varios investigadores han encontrado que ciertos polimorfismos génicos hacen a las pacientes más susceptibles de VB, que es un factor de riesgo para infección intra amniótica (GOMEZ et al.,2010).

Se han encontrado seis loci relacionados con PP y la duración de la gestación: en el cromosoma 5, locus EBF1 regula la diferenciación y desarrollo de adipocitos, asociado con el peso al nacer; cromosoma 3, locus EEFSEC metabolismo de selenio, la concentración reducida de selenio está asociada con el riesgo de PP; cromosoma 1, locus WNT4 relacionado con el desarrollo del sistema reproductivo femenino, asociado a endometriosis; cromosoma X, locus AGTR2 modula la circulación uteroplacentaria; cromosoma 3, locus ADCY5 energía celular y metabolismo; cromosoma X, locus RAP2C asociado con el peso al nacer (ZHANG et al.,2018).

Las modificaciones del receptor de glucocorticoides NR3C1, el receptor activado proliferador de peroxisomas c PPAR γ y el factor regulador de interferón 3 IRF3 pueden ser específicos de PP. Los genes específicos de ruptura prematura pretérmino de membranas, son aquellos relacionados con la regulación del ER-2 y el transductor de señal y activador de la transcripción STAT1; el factor de transcripción inflamatorio NF κ B está vinculado tanto a PP como a ruptura prematura pretérmino de membranas (CAPECE et al.,2014).

Por tanto, son muchos factores clínicos, bioquímicos, moleculares, endocrinológicos y genéticos que determinan que se produzca un PP.

1.5. Metaloproteinasas de la matriz

1.5.1. Definición

Llamadas también matricinas, son endopeptidasas que contienen zinc, calcio dependientes, que participan en la degradación de la matriz extracelular; son una subfamilia de las metaloproteinasas o metzincinas (VERMA; HANSCH,2007; TOKITO; JOUGASAKI,2016).

1.5.2. Estructura de las metaloproteinasas

La enzima está conformada por: pro péptido N-terminal, dominio catalítico, dominio C terminal, las MMP tienen una estructura común de dominios. Los tres dominios comunes son el

pro-péptido, el dominio catalítico y el dominio C-terminal similar a la hemopexina, que está unido al dominio catalítico por una región bisagra flexible.

El pro péptido: las MMP se sintetizan como zimógenos inactivos con un dominio de pro péptido, antes de la actividad de la enzima, se debe eliminar el dominio pro péptido. El dominio pro péptido es parte del "interruptor de cisteína", este dominio tiene un resto de cisteína conservado que interactúa con el zinc que está en el sitio catalítico y, por tanto, evita la unión y la escisión del sustrato, manteniendo la enzima en una forma inactiva proMMP. El residuo de cisteína está en la secuencia conservada PRCGXPD, y el Zinc en la secuencia HEXGHXXGXXH en la mayoría de las MMPs, las MMP-23A y MMP-23B incluyen un segmento transmembrana en este dominio (WOESSNER,1999; VISSE; NAGASE, 2003; SANKARI et al.,2016; NAGASE; TOKITO; JOUGASAKI,2016).

El dominio catalítico: la estructura cristalográfica de rayos X muestra que este dominio es una esfera achatada que mide 3.5 x 3 x 3 nm, el sitio activo es un surco de 2 nm que atraviesa el dominio, en el dominio catalítico que forma el sitio activo hay un ion Zn catalíticamente importante, que está unido por 3 residuos de histidina encontrados en la secuencia conservada. Por lo tanto, esta secuencia es un elemento de unión a zinc. La MMP-2, integra a la fibronectina tipo II insertada inmediatamente antes en el sitio de unión de zinc en el dominio catalítico.

La región de la bisagra: el dominio catalítico está unido al dominio C terminal por una bisagra flexible, tiene una longitud de hasta 75 aminoácidos.

El dominio C-terminal de tipo hemopexina: el dominio C-terminal tiene similitudes en estructura a la proteína hemopexina sérica, tiene una estructura de hélice de 4 palas, involucrada en las interacciones proteína-proteína, la especificidad de sustrato y el sitio de interacción con el TIMP. El dominio similar a la hemopexina está ausente en MMP-7, MMP-23, MMP-26. Las MMP unidas a la membrana (MT-MMP) están conectadas a la membrana plasmática a través de un dominio transmembrana o un dominio de anclaje GPI (figura 1). Las MMPs, se secretan de la célula o se anclan a la membrana plasmática (WOESSNER,1999; VISSE; NAGASE,2003; SANKARI et al.,2016; NAGASE; TOKITO; JOUGASAKI,2016).

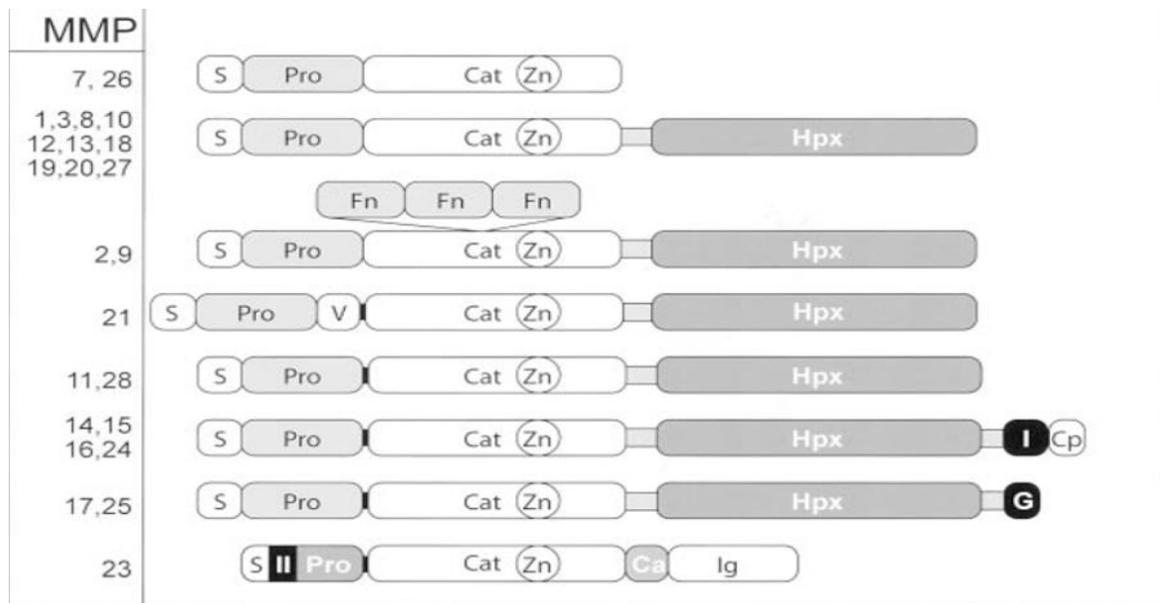


Figura 1: Estructura de las Metaloproteinasas

La organización del dominio de las MMP es indicada como: S, péptido señal; Pro, propéptido; Cat, dominio catalítico; Zn, zinc de sitio activo; Hpx, dominio de hemopexina; Fn, dominio de fibronectina; V, inserto de vitronectina; I, dominio transmembrana de Tipo I; II, dominio transmembrana de tipo II; G, ancla GPI; Cp, dominio citoplasmático; Ca, región de la matriz de cisteína; e Ig, dominio similar a IgG. Un sitio de escisión de furina se representa como una banda negra entre el propéptido y el dominio catalítico. (Modificado de VISSE; NAGASE, 2003)

1.5.3. Clasificación de las metaloproteinasas de la matriz

En base a la especificidad de sustrato, la similitud de la secuencia y la organización de los dominios se dividen en seis grupos: colagenasas, gelatinasas, estromelinas, matrilinas, MMPs tipo membrana y otras MMPs (tabla 1) (VISSE; NAGASE, 2003).

1.5.3.1. Las colagenasas

En este grupo están: MMP-1, MMP-8, MMP-13 y MMP-18. La MMP-1 actúa sobre: colágenos (I, II, III, VIII y X), gelatina, agregano, L selectina, IL-1, proteoglicanos, entactina, ovostatina, MMP-2 y MMP-9. La MMP-8 actúa sobre: colágenos (I, II, III, V, VII, VIII y X), gelatina, agregano, fibronectina. La MMP-13 actúa sobre: colágenos (I, II, III, IV, IX, X y XIV), gelatina, plasminógeno, agregano, perlecan, fibronectina, osteonectina y MMP-9. La MMP-18

actúa sobre: colágenos (I, II, III, VIII y X), gelatina, agrecano (WOESSNER,1999; VISSE; NAGASE, 2003; SANKARI et al.,2016; NAGASE; TOKITO; JOUGASAKI,2016).

1.5.3.2. Las gelatinasas

Estas actúan sobre el colágeno desnaturalizados o gelatinas. En este grupo están: la gelatinasa A (MMP-2) y la gelatinasa B (MMP-9); estas enzimas tienen tres dominios fibronectina de tipo II en el dominio catalítico, que se une a gelatina, colágenos y laminina. La MMP-2 actúa sobre: colágenos (I, II, III, IV, V, VII, X, XI y XIV), gelatina, elastina, fibronectina, agrecano, osteonectina, laminina-1, MMP-1, MMP-9 y MMP-13. La MMP-9 actúa sobre: colágenos (IV, V, VII, X, XIV), gelatina, entactina, agrecano, elastina, fibronectina, osteonectina, plasminógeno e IL-1b (NAGASE; WOESSNER,1999; ALLAN et al.,1995; AIMES; QUIGLEY,1995; ITOH et al., 1997; PETERSON et al., 2001; VISSE; NAGASE, 2003; SANKARI et al.,2016; TOKITO; JOUGASAKI,2016).

1.5.3.3. Las estromelisininas

En este grupo están: estromelisinina 1 (MMP-3), estromelisinina 2 (MMP-10), y estromelicina 3 (MMP-11) generalmente es agrupada con "otras MMP" porque la secuencia y la especificidad del sustrato difieren de las de MMP-3. La MMP-3 actúa sobre: colágenos (III, IV, V y IX), gelatina, agrecano, perlecano, decorina, laminina, elastina, caseína, osteonectina, ovostatina, antactina, plasminógeno, IL-1, MMP-2/TIMP-2, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-13, MMP-3 tiene una eficacia proteolítica mayor que la de MMP-10 en general, la MMP-3 activa una serie de proMMP, y su acción en un proMMP-1 parcialmente procesado es fundamental para la generación de MMP-1. La MMP-10 actúa sobre: colágenos (III-V), gelatina, caseína, agrecano, elastina, MMP-1, MMP-8. La MMP-11 actúa probablemente sobre la caseína (NAGASE; WOESSNER,1999; VISSE; NAGASE, 2003; SANKARI et al.,2016; TOKITO; JOUGASAKI,2016).

1.5.3.4. Las matrilisinas

Las matrilisinas se caracterizan por la falta de un dominio de hemopexina. En este grupo están: matrilisina 1 (MMP-7) y matrilisina 2 (MMP-26), también llamadas endometasas. La MMP-7 actúa sobre: colágenos (IV y X), gelatina, agregano, decorina, fibronectina, laminina, entactina, elastina, caseína, transferrina, plasminógeno, 4-integrina, MMP-1, MMP-2, MMP-9, MMP9/TIMP-1, moléculas de la superficie celular como la prodefensina, el ligando Fas, el TNF α . La MMP-26 actúa sobre: gelatina, fibrinógeno, fibronectina, vitronectina (NAGASE; WOESSNER,1999; VISSE; NAGASE, 2003; SANKARI et al.,2016; TOKITO; JOUGASAKI,2016).

1.5.3.5. Las MMP de tipo membrana

Existen seis MMP de tipo membrana (MT-MMP): cuatro son proteínas transmembrana tipo I (MMP-14, MMP-15, MMP16 y MMP-24), y dos son proteínas ancladas con glucosilfosfatidilinositol (GPI) (MMP-17 y MMP-25). La MMP-14 actúa sobre: colágenos (I-III), gelatina, caseína, fibronectina, laminina, vitronectina, entactina, proteoglicanos, MMP-2, MMP-13. La MMP-15 actúa sobre: fibronectina, entactina, laminina, perlekano, MMP-2. La MMP-16 actúa sobre: colágeno III, gelatina, caseína, fibronectina, MMP-2. La MMP-24 y MMP-17 sus sustratos no son adecuadamente conocidos. La MMP-25 actúa sobre: Pro-gelatinasa A, fibrina, fibronectina, colágeno IV y gelatina (NAGASE; WOESSNER,1999; VISSE; NAGASE, 2003; SANKARI et al.,2016; TOKITO; JOUGASAKI,2016).

Con la excepción de MMP-17, todos son capaces de activar proMMP-2, estas enzimas como vimos pueden digerir varias moléculas de la matriz extracelular, y tiene actividad colagenolítica. La MMP-14 también juega un papel importante en la angiogénesis. La MMP-24 es específico del cerebro y se expresa principalmente en el cerebelo, la MMP-25 se expresa casi exclusivamente en leucocitos de sangre periférica (NAGASE; WOESSNER,1999; VISSE; NAGASE, 2003; SANKARI et al.,2016; TOKITO; JOUGASAKI,2016).

1.5.3.6. Otras MMP

Siete MMPs no están clasificadas en las categorías anteriores; la MMP-12 o metaloelastasa: se expresa en macrófagos y es esencial para su migración, además de la elastina, digiere una serie de otras proteínas como: colágeno IV, gelatina, caseína, fibronectina, vitronectina, laminina, entactina, fibrinógeno, fibrina, y plasminógeno. La MMP-19 se identificó mediante la clonación de ADNc del hígado y como un autoantígeno derivado de células T de pacientes con artritis reumatoidea; actúa sobre: gelatina, agregano y fibronectina. La MMP-20 o enamelisina que digiere la amelogenina y agregano, se encuentra principalmente dentro del esmalte dental recién formado. La MMP-21 llamada XMMP, sustrato no conocido. La MMP-22 llamada CMMP se clonó primero a partir de fibroblastos de pollo, y se identificó un homólogo humano. La MMP-23 también llamada matriz de cisteína MMP, se expresa principalmente en los tejidos reproductivos, esta enzima no cuenta con el interruptor de cisteína en el predominio y el dominio de hemopexina; tiene un dominio rico en cisteína seguido de un dominio similar a la inmunoglobulina, se escinde en el aparato de Golgi y se libera como enzima activa al espacio extracelular. La MMP-28 o epilisina se expresa en queratinocitos, podría funcionar en la hemostasia tisular y la reparación de heridas, actúa también sobre la caseína (NAGASE; WOESSNER,1999; VISSE; NAGASE, 2003; SANKARI et al.,2016; TOKITO; JOUGASAKI,2016).

Tabla 1 - Metaloproteinasas, tipo de enzima y cromosoma de localización. (Modificado de NAGASE; WOESSNER,1999; VISSE; NAGASE, 2003; SANKARI et al.,2016).

Tipo de Enzima	MMP	Cromosoma humano
Colagenasas		
Colagenasa 1	MMP-1	11q22-q23
Colagenasa 2	MMP-8	11q21-q22
Colagenasa 3	MMP-13	11q22.3
Colagenasa 4	MMP-18	-
Gelatinasas		
Gelatinasa A	MMP-2	16q13
Gelatinasa B	MMP-9	20q11.2-q13.1
Estromelisinas		
Estromelisina 1	MMP-3	11q23
Estromelisina 2	MMP-10	11q22.3-q23
Estromelisina 3	MMP-11	22q11.2

Matrilisinas		
Matrilisina 1	MMP-7	11q21-q22
Matrilisina 2	MMP-26	11p15
MMPs tipo Membrana		
Transmembrana		
MT1-MMP	MMP-14	14q11-q12
MT2-MMP	MMP-15	15q13-q21
MT3-MMP	MMP-16	8q21
MT5-MMP	MMP-24	20q11.2
Ancladas con GPI		
MT4-MMP	MMP-17	12q24.3
MT6-MMP	MMP-25	16p13.3
Otras MMPs		
Métalo-elastasa	MMP-12	11q22.2-q22.3
-	MMP-19	12q14
Enamelisina	MMP-20	11q22.3
XMMP	MMP-21	-
CMMP	MMP-22	11q24
Matriz de cisteína	MMP-23	1p36.3
Epilisina	MMP-28	17q21.1

1.5.4. Metaloproteinasa de matriz 2 o gelatinasa A, metaloproteinasa de matriz 9 o gelatinasa B

1.5.4.1. Estructura tridimensional

Por cristalografía de rayos X y resonancia magnética nuclear, podemos conocer la estructura tridimensional de MMP-2 y MMP-9 (figura 2).

El propéptido, consiste en tres hélices y bucles de conexión, el primer bucle entre la hélice 1 y la 2 es una "región de cebo" sensible a la proteasa, una región peptídica extendida después de la hélice 3 se encuentra en la hendidura de unión al sustrato del dominio catalítico, esta región contiene el interruptor de cisteína conservado, que forma un cuarto ligando del zinc del sitio activo, manteniendo el zimógeno inactivo.

Es notable que la orientación del esqueleto del propéptido cuando interactúa con la hendidura del sitio activo es opuesta a la de un sustrato peptídico, sin embargo, los enlaces de hidrógeno que forma con el sitio activo son idénticos a los de una cadena principal del sustrato, los

pliegues de la cadena de polipéptidos de los dominios catalíticos son esencialmente superponibles; la cadena consiste en una lámina de 5 hilos trenzados, tres huecos y lazos conectivos, este dominio de proteinasa contiene un zinc catalítico, un zinc estructural y, en general, tres iones de calcio. La hendidura de unión al sustrato está formada por la hebra IV, la hélice B y la región del asa extendida después de la hélice B, tres histidinas coordinan el zinc del sitio activo.

La región del bucle contiene el "Met-turn" conservado, una base para sostener la estructura alrededor del zinc catalítico, el cuarto ligando del zinc catalítico es una molécula de agua, el ácido glutámico adyacente a la primera histidina es esencial para la catálisis, un sustrato se une al sitio catalítico hendido de izquierda a derecha con respecto a sus extremos N y C, y el grupo carbonilo del enlace peptídico se coordina con el zinc del sitio activo. Esto desplaza la molécula de agua del átomo de zinc, la hidrólisis del péptido es asistida por el grupo carboxilo del glutamato, que sirve como base general para extraer un protón de la molécula de agua desplazada, lo que facilita el ataque nucleófilo de la molécula de agua sobre el carbono carbonílico del enlace péptido. Un bolsillo a la derecha del zinc del sitio activo, llamado bolsillo de especificidad o bolsillo S1, acomoda la cadena lateral del residuo del sustrato, que se convierte en el nuevo N-terminal después de la escisión, los tamaños del bolsillo S1 varían entre las MMP, y este es uno de los principales factores determinantes de la especificidad del sustrato (VISSE; NAGASE, 2003).

Se insertan tres repeticiones de dominios de fibronectina tipo II encontrados en MMP-2 y MMP-9 entre la quinta cadena. y el sitio catalítico, la estructura de cada dominio de fibronectina consta de dos láminas antiparalelas, conectadas con una hélice corta y estabilizadas por dos enlaces disulfuro. Los estudios de RMN han indicado que los dominios 2 y 3 son bastante flexibles, posiblemente interactuando simultáneamente con múltiples sitios en la matriz extracelular, los dominios de hemopexina tienen un doblez de hélice de 4 palas, con un enlace de disulfuro estabilizador único entre las palas I y IV, los dominios de hemopexina de MMP-9 forman un homodímero asimétrico a través de la cuchilla IV, la asimetría es el resultado de cambios en la estructura de la cuchilla III y IV en la dimerización, lo que altera sus propiedades fisicoquímicas.

El dominio de hemopexina de MMP-9 se une al C- dominio terminal de TIMP-1, sin embargo, las formaciones de este complejo y el dímero MMP-9 son mutuamente excluyentes, probablemente debido a una superposición en el sitio de unión de TIMP-1 y la interfaz del dímero; el TIMP-2 se une al dominio de hemopexina de proMMP-2, la estructura cristalina de este complejo muestra que esta interacción es a través del dominio C-terminal de TIMP-2 y las cuchillas III y IV

del dominio de hemopexina; el dominio inhibitorio N-terminal de TIMP-2 es libre de interactuar con otras MMP.

Los dominios de hélice con un mayor número de cuchillas se encuentran en otras proteínas, como las proteínas heterotriméricas G, la clatrina y la subunidad de las integrinas, estos dominios a menudo median interacciones proteína-proteína; dependiendo de la MMP específica, el dominio similar a la hemopexina es importante para la especificidad del sustrato y se requiere para la activación de proMMP-2 y la dimerización de MT1-MMP y MMP-9 (VISSE; NAGASE, 2003).

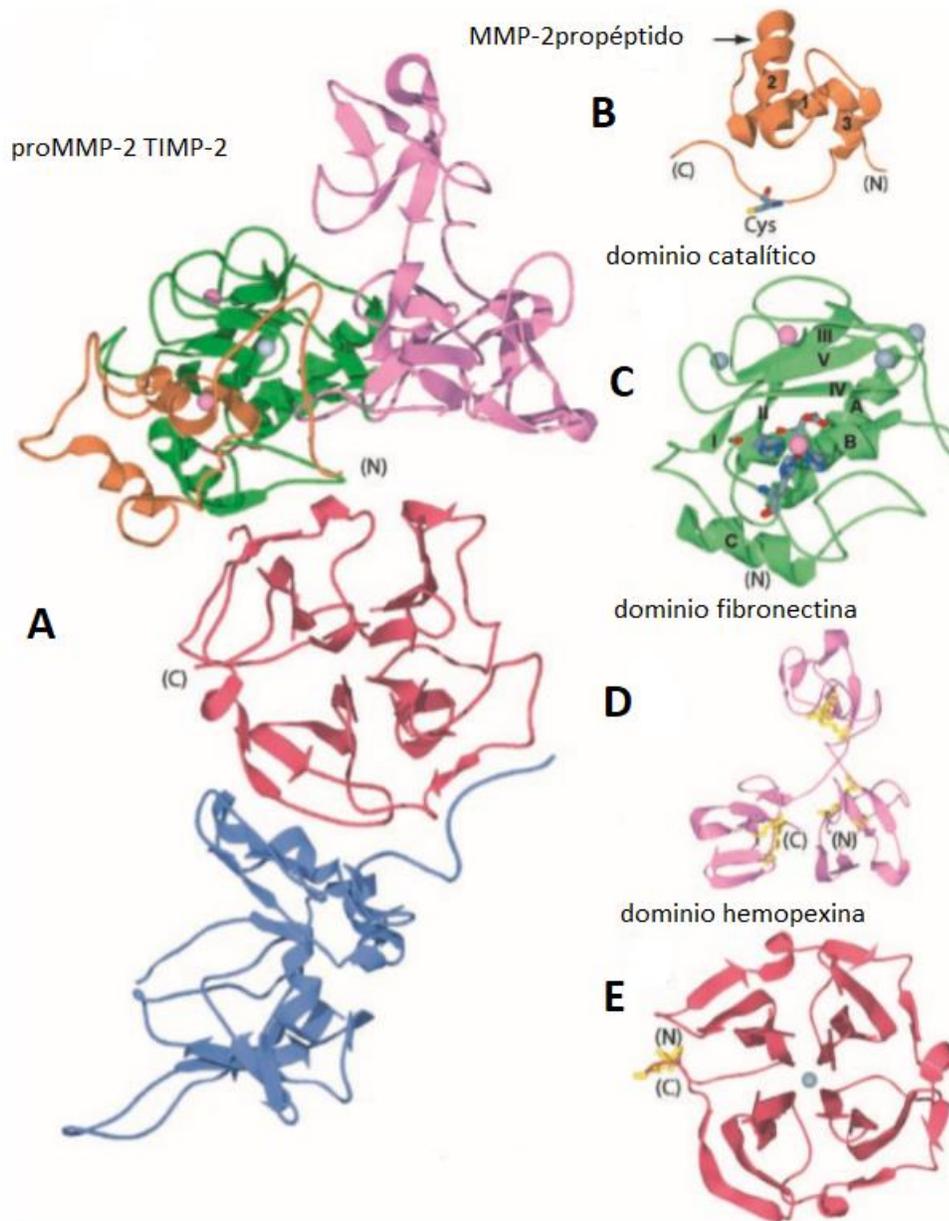


Figura 2: Estructura 3 Dimensiones de las MMPs

A, se muestra el complejo ProMMP2-TIMP-2. En naranja propéptido; verde, dominio catalítico; dominios rosados de fibronectina; rojo, dominio de hemopexina; y azul, TIMP-2. Los átomos de zinc son rosados y los átomos de calcio son grises. B, en el propéptido MMP-2, se muestra la cisteína del interruptor de cisteína. La flecha indica la posición de la escisión inicial que da como resultado una activación parcial. C, se muestra el dominio catalítico de MMP-1. Las cadenas están numeradas de I a V; las hélices están etiquetadas de la A a la C. El orden N-terminal (N) a C-terminal (C) de las bases y las hélices es I-A-II-III-IV-V-B-C. Se muestran las histidinas que

coordinan el zinc del sitio activo y el ácido glutámico del sitio activo. D, los 3 dominios de fibronectina de MMP-2, se muestran con sus 2 enlaces disulfuro cada uno. E, se muestra el dominio de hemopexina de MMP-1 con palas de 4 hélices. Se observa un enlace disulfuro entre las cuchillas I y IV. (Modificado de VISSE; NAGASE, 2003).

1.5.4.2. Mecanismo de acción de las MMPs

Las MMPs son producidas en forma de zimógenos inactivos proMMP, que deben activarse, mediante varios mecanismos, para ejercer su efecto en la matriz extracelular.

1.5.4.2.1. Activación gradual de las MMPs

Las MMP pueden activarse por vía proteolítica o no proteolítica, por ejemplo, in vitro mediante agentes químicos, como los agentes modificadores de tiol, glutatión oxidado y formas reactivas de oxígeno, también el pH bajo y el tratamiento térmico; es muy probable que estos agentes trabajen a través de la alteración de la interacción cisteína-zinc del interruptor de cisteína, la escisión inicial ocurre dentro del propéptido y esta reacción es intramolecular en lugar de intermolecular. La posterior eliminación del resto del propéptido se debe a la reacción intermolecular de los intermedios generados (VISSE; NAGASE, 2003).

El ataque proteolítico inicial ocurre en una región de bucle expuesta entre la primera y la segunda hélices del propéptido; la especificidad de escisión de la región de cebo está dictada por la secuencia encontrada en cada MMP, una vez que se elimina una parte del propéptido, esto probablemente desestabiliza el resto del propéptido, incluida la interacción cisteína-interruptor de zinc, que permite el procesamiento intermolecular mediante intermediarios de MMP parcialmente activados u otras MMP activas (VISSE; NAGASE, 2003).

La plasmina también activa proMMP, la plasmina se genera a partir del plasminógeno, por dos mecanismos mediante el activador del plasminógeno tisular unido a la fibrina y el activador del plasminógeno uro quinasa unido a un receptor específico de la superficie celular; se ha informado que la plasmina activa proMMP-1, proMMP-3, proMMP-7, proMMP-9, proMMP-10 y proMMP-13 (figura 3). El sistema de activación gradual tiene mecanismos reguladores más finos para controlar las enzimas destructivas, ya que los TIMP pueden interferir con la activación, al

interactuar con la MMP intermedia antes de que se active por completo (VISSE; NAGASE, 2003; TOKITO; JOUGASAKI,2016).

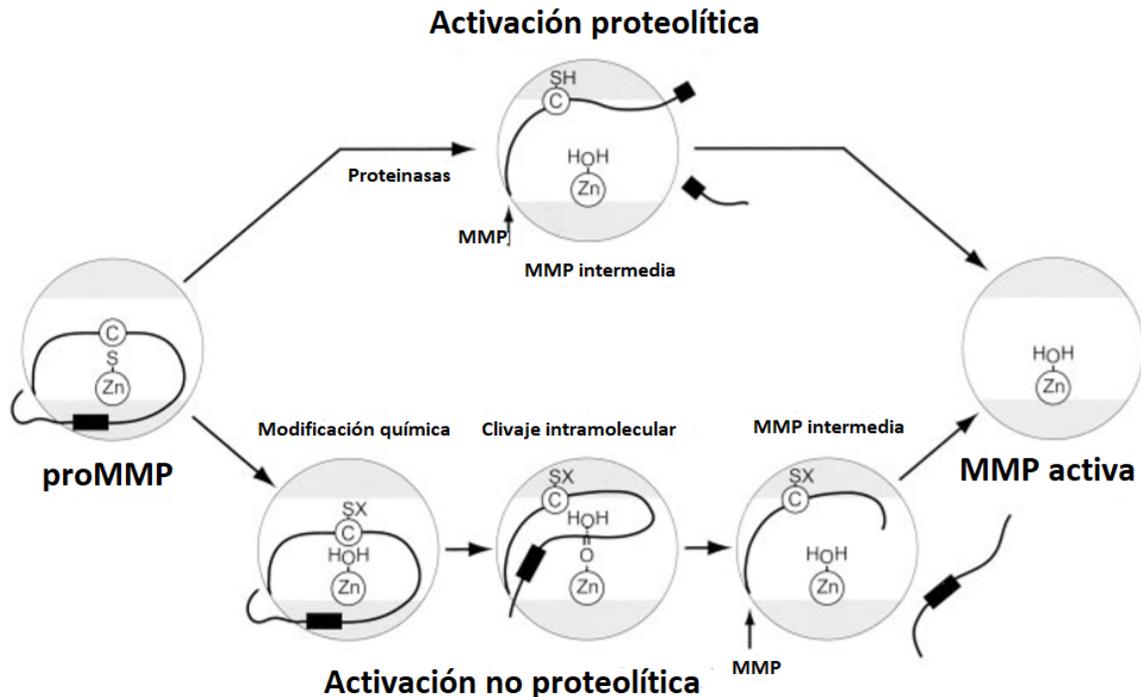


Figura 3: Activación gradual de las proMMPs

Los ProMMP secretados como zimógenos inactivos pueden activarse por proteinasas (vía superior) o por agentes no proteolíticos (vía inferior). El dominio catalítico se representa como un círculo gris, con la hendidura del sitio activo mostrada en blanco, que contiene el zinc del sitio catalítico (Zn). El propéptido se muestra esquemáticamente como una línea negra que contiene la región del cebo (rectángulo negro) y el interruptor de cisteína (C). SH indica el sulfidrilo de la cisteína. La activación por proteinasas está mediada por la escisión de la región del cebo. La activación completa se logra mediante la eliminación completa del propéptido mediante procesamiento intermolecular. La activación química se basa en la modificación del interruptor de cisteína sulfidrilo (SX), lo que resulta en la activación parcial de la MMP y la escisión intramolecular del propéptido. La actividad completa resulta de la eliminación del resto del propéptido mediante procesamiento intermolecular. (Modificado de VISSE; NAGASE, 2003).

1.5.4.2.2. Activación en la superficie celular de ProMMP-2

La activación principal de proMMP-2 tiene lugar en la superficie celular y está mediada por MT-MMP, más que por proteinasas, esto incluye MT1-MMP, MT2-MMP, MT3-MMP, MT5-MMP, y MT6-MMP.

ProMMP-2 para activarse debe formar un complejo con TIMP-2 por medio de sus C-terminales, lo que permite que el dominio inhibitorio N-terminal de TIMP-2 en el complejo se una a MT1-MMP en la superficie celular. El proMMP-2 unido a la superficie celular se activa luego por un MT1-MMP que está libre de TIMP-2; alternatively, MT1-MMP inhibido por TIMP-2 puede actuar como un "receptor" de proMMP-2.

Este complejo MT1-MMP–TIMP-2–proMMP-2 se presenta luego a un MT1-MMP libre adyacente para su activación. La agrupación de MT1-MMP en la superficie celular a través de interacciones del dominio de hemopexina facilita el proceso (figura 4). La activación de ProMMP-2 por MT2-MMP es directa e independiente de TIMP-2 (VISSE; NAGASE, 2003).

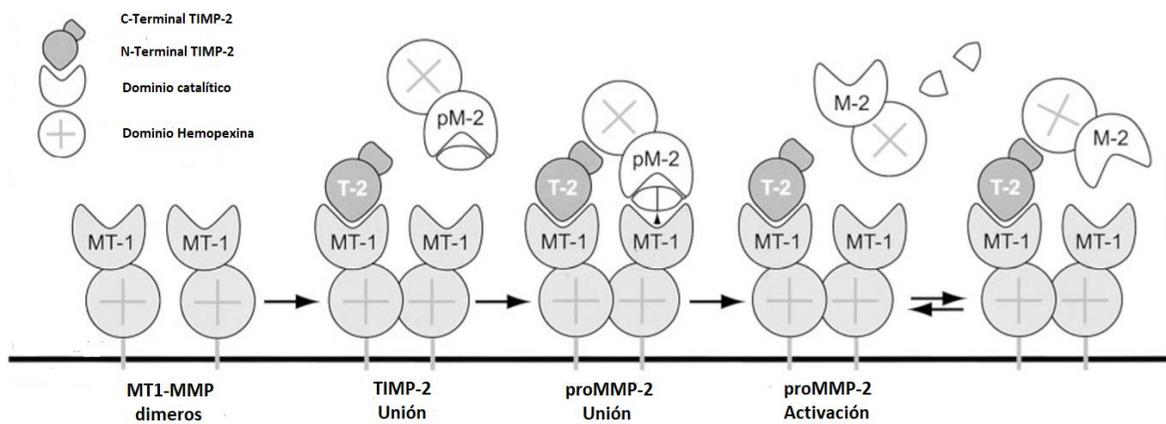


Figura 4: Modelo de activación de proMMP-2 por MT1-MMP y TIMP-2

El MT1-MMP activo (MT-1) en la membrana se une a una molécula de TIMP-2 (T-2), inhibiendo su actividad. MT1-MMP puede formar dímeros o multímeros en la superficie celular a través de la interacción de los dominios de hemopexina. ProMMP-2 (pM-2) se une posteriormente al dominio C-terminal de TIMP-2 a través de su dominio de hemopexina. El segundo, activo, MT1-MMP luego escinde la región de cebo de proMMP-2, lo que lo activa en

parte. El MMP-2 (M-2) se disocia de la membrana y se activa completamente mediante procesamiento intermolecular. (Modificado de VISSE; NAGASE, 2003)

1.5.4.2.3. Clivaje de sustrato por las MMPs

Las MMP rompen un enlace peptídico antes de un residuo con una cadena lateral hidrófoba, como leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina o tirosina; un enlace peptídico con un residuo cargado en esta posición rara vez se corta, los residuos hidrofóbicos se ajustan al bolsillo de especificidad S1, cuyo tamaño y forma difieren considerablemente entre MMPs, además del bolsillo S1, otros sitios de contacto del sustrato (subsitos) también participan en la especificidad del sustrato de la enzima (GRONSKI et al.,1997; BODE et al.,1999).

Contra las grandes macromoléculas de la matriz extracelular, los dominios no catalíticos ayudan a la actividad enzimática; por ejemplo, los dominios de fibronectina de MMP-2 y MMP-9 son importantes por su actividad en colágeno, gelatina y elastina de tipo IV, otras estructuras como la hemopexina y la bisagra entre los dominios, forman parte en el proceso de lisis del colágeno (MURPHY et al.,1994; SHIPLEY et al.,1996; VISSE; NAGASE, 2003).

1.5.4.2.4. Actividad Biológica generada por clivaje de las MMPs

En muchos casos las MMPs a más de degradar las estructuras de la matriz extracelular, liberan moléculas biológicamente activas de la matriz.

La MMP-2 al degradar sustratos como, la fibronectina produce migración celular, al degradar la proteína ligadora del factor de crecimiento similar a la insulina incrementa la cantidad de factor de crecimiento similar a la insulina Tipo I y favorece la proliferación celular, al actuar sobre la laminina favorece la migración celular epitelial, al degradar IL-1b y la proteína 3 quimiotáctica de monocitos favorece el efecto anti inflamatorio, sobre la decorina favorece el incremento de la fracción libre del factor de crecimiento transformador beta(VISSE; NAGASE, 2003).

La MMP-9 al degradar sustratos como: el plasminógeno genera fragmento similar a la angiostatina, al actuar sobre el procesamiento de IL-1b a partir del precursor favorece el efecto pro

inflamatorio, al actuar sobre IL-2 receptor alfa reduce la respuesta de la IL-2 (VISSE; NAGASE, 2003; TOKITO; JOUGASAKI,2016).

1.5.4.2.5. Inhibidores tisulares de las MMPs

Los TIMP son inhibidores específicos que se unen a MMP en una estequiometría 1:1. Se han identificado cuatro TIMP (TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 y TIMP-4) en vertebrados, su expresión se regula durante el desarrollo y la remodelación de los tejidos; los niveles de TIMP se consideran importantes porque afectan directamente el nivel de actividad de MMP, los TIMP pesan de 21 a 29 kDa tienen un dominio N y C-terminal de 125 y 65 aminoácidos, respectivamente, cada uno con tres enlaces disulfuro conservados, el dominio N-terminal se pliega como una unidad separada y es capaz de inhibición de MMP (VISSE; NAGASE, 2003; TOKITO; JOUGASAKI,2016).

Los TIMP tienen una distribución según el tejido, que refleja su expresión génica, que se regula individualmente. TIMP-3 está secuestrado en la matriz extracelular, mientras los demás TIMP están presentes en forma soluble; existe una superposición considerable en la propiedad bioquímica de los TIMP, aunque hay algunas especificidades, por ejemplo, la especificidad de TIMP-3 para ADAM17. Además de su actividad inhibitoria, los TIMP tienen otras funciones biológicas importantes involucradas en la proliferación celular y la apoptosis, la angiogénesis e incluso la activación de varios proMMP latentes; la relación MMP/TIMP determina la actividad proteolítica in vivo (VISSE; NAGASE, 2003; TOKITO; JOUGASAKI,2016).

1.6. Metaloproteinasas de la matriz en el parto prematuro

Las MMPs degradan los compuestos de la matriz extracelular, de los cuales se encuentran formados las membranas corión, amnios y el cuello del útero, esto ocasiona debilitamiento de su estructura y la posterior ruptura en el caso de las membranas y en el cérvix reblandecimiento, favoreciendo su dilatación y como resultado final PP, dentro de este proceso la placenta se separa de su unión a la decidua, gracias también a la acción de las MMPs.

1.6.1. Metaloproteinasas de la matriz y membranas fetales

1.6.1.1. Estructura de las membranas fetales

Las membranas fetales están conformadas por corión y amnios originadas del trofoblasto embrionario, el amnios más delgado y resistente tiene cinco capas, el corión más grueso y menos resistente tiene tres capas.

Las membranas fetales tienen una gran cantidad de tejido conectivo tanto el corión como el amnios, la mayor parte de la resistencia de estos tejidos están en la capa compacta del amnios, conformada por abundantes fibras de colágeno dispuestas muy juntas unas de otras y la ausencia de células.

Las capas reticular y esponjosa ayudan al soporte mecánico también; la matriz extracelular de las membranas, está compuesta de varios tipos de colágeno dispuestos de manera que incrementan su resistencia al máximo, los principales tipos de colágeno son: I, III, IV, V, VI y abundantes proteoglicanos, que están integrados en las proteínas fibrosas, los colágenos de tipos I y III dan el soporte principal, estabilizándose por colágenos tipo: IV, V y VI, que forman una red (figura 5) La ruptura prenatal de las membranas fetales se produce por la pérdida de la resistencia y por cambios de su arquitectura, debido a la activación anormal de enzimas como las MMPs (BRYANT-GREENWOOD,1998; PARRY; STRAUSS,1998; VADILLO-ORTEGA; ESTRADA-GUTIÉRREZ,2005).

Capa	Composición Matriz Extracelular	MMP y TIMP Producidos
Líquido Amniótico		
Amnio		
Epitelio		MMP-1, MMP-2, MMP-9
Membrana Basal	Colágeno Tipo: III, IV, V; Laminina Fibronectina	
Capa Compacta	Colágeno Tipo: I, III, V, VI; Fibronectina	
Capa Fibroblastos	Colágeno Tipo: I, III, VI; Laminina Fibronectina	MMP-1, MMP-9, TIMP-1
Capa Intermedia Esponjosa	Colágeno Tipo: I, III, IV; Proteoglicanos	
Corion		
Capa Reticular	Colágeno Tipo: I, III, IV, V, VI; Proteoglicanos	
Membrana Basal	Colágeno Tipo: IV; Laminina Fibronectina	
Trofoblasto		MMP-9
Decidua Materna		

Figura 5: Representación esquemática de las membranas fetales y los sitios de producción de MMPs y TIMPs. (Modificado de PARRY; STRAUSS, 1998)

1.6.1.2. MMPs 2 y 9, su efecto en las membranas fetales

Aunque no se ha descrito el papel de todas las MMP en la degradación de la matriz extracelular de las membranas fetales, las enzimas principales asociadas con este proceso son las gelatinasas A y B (MMP-2 y MMP-9, respectivamente) y las colagenasas 2 y 3, también conocidas como MMP-8 y MMP-13; la estromelisina-1 (MMP-3) se expresan en la labor de parto. De acuerdo a su afinidad por el colágeno y otros compuestos de la matriz extracelular, se ha relacionado a estas enzimas con la posibilidad de ruptura de membranas y PP (tabla 2). (VADILLO-ORTEGA; ESTRADA-GUTIÉRREZ, 2005).

Tabla 2 - Afinidad de sustrato de las distintas MMPs relacionadas con parto prematuro
(Modificado de VADILLO-ORTEGA; ESTRADA-GUTIÉRREZ,2005)

	Gelatinasas		Colagenasas		Estromelina
	MMP-2	MMP-9	MMP-8	MMP-13	MMP-3
Colágeno Tipo I	Si	No	Si	Si	Si
Colágeno Tipo III	Si	No	Si	Si	No
Colágeno Tipo IV	Si	Si	No	No	No
Colágeno Tipo V	Si	Si	No	No	No
Colágeno Tipo VI	No	No	No	Si	No
Proteoglicanos	Si	Si	Si	Si	Si

La MMP-2 se expresa fundamentalmente en el estroma de los tejidos: en el amnios, pero no en el corion según otros autores puede estar en el corión liso, decidua parietal, vasos sanguíneos de las vellosidades placentarias durante la gestación; su actividad se presenta durante la labor de parto y el resto de la gestación (XU; ALFAIDY; CHALLIS,2002; VADILLO-ORTEGA; ESTRADA-GUTIÉRREZ,2005).

MMP-9 se expresa fundamentalmente en el epitelio, selectivamente al final de la gestación en condiciones fisiológicas o en labor de PP: por el amnios, el corión liso, el trofoblasto, la decidua parietal, y el sincitiotrofoblasto placentario, es la principal MMP expresada durante el parto (XU; ALFAIDY; CHALLIS,2002).

Existe una correlación entre la expresión de la enzima MMP-9 y la disminución de la resistencia a la tracción de la membrana, por tanto, la expresión de MMP-9 lo convierte en un potencial marcador molecular en el inicio del trabajo de parto; las poblaciones de linfocitos T (CD3+) que expresan MMP-9 son atraídas a la interfase corion decidua y son capaces de establecer comunicación con otras poblaciones celulares ubicadas cerca de las membranas y juntas degradar la matriz extracelular (UCHIDE et al.,2000; VADILLO-ORTEGA; ESTRADA-GUTIÉRREZ,2005).

El cultivo celular de diferentes capas de las membranas fetales y de células trofoblásticas placentarias purificadas mostraron que: el sincitiotrofoblasto y las células epiteliales del amnios producen solo MMP-9, las células trofoblásticas de corion producen MMP-2 y MMP-9 y las células mesenquimales del amnios producen exclusivamente MMP-2 (XU; ALFAIDY; CHALLIS,2002).

MMP-13 es secretada por el amnios durante el parto, mientras que las células polimorfonucleares infiltrantes secretan MMP-8; el modelo hipotético general para la ruptura normal de la membrana durante el parto implica la inducción de la expresión, secreción y activación

de MMP por células locales e infiltradas, sincrónicamente con los cambios miométriales y cervicales, esto conduce a la pérdida progresiva de las propiedades mecánicas de las membranas y, finalmente a su ruptura. La ruptura prematura de membranas pretérmino puede explicarse por la activación anormal de este sistema enzimático de tal manera que no sea sincrónico con otros mecanismos de labor (VADILLO-ORTEGA; ESTRADA-GUTIÉRREZ,2005).

1.6.1.2.1. Modulación del efecto de las MMPs 2 y 9 en las membranas fetales

Existen varias citoquinas capaces de modular la expresión y activación de MMPS en las membranas fetales y otras células; las capas histológicas que contienen el soporte mecánico de la matriz extracelular están flanqueadas como un "sándwich" por células secretoras de MMP del amnios y el corion durante el inicio del parto. La pro MMP 2 y 9 se encuentran presentes en membranas fetales de pacientes sin labor de parto, con una mayor cantidad de pro MMP-9 en la región sobre el cérvix, lo cual podría indicar que esta área se programa para una activación de las MMP y posterior ruptura de membranas (MCLAREN; TAYLOR; BELL,2000).

En humanos y primates, la secreción de varias MMP se produce entre cinco y seis días antes del nacimiento, por tanto, debe existir acumulación de la MMP inactiva en la matriz extracelular, durante los últimos días de gestación, así como la existencia de un mecanismo de activación para iniciar la transición entre la pro-MMP preexistente y sus formas activas. La estimulación *in vitro* del amniocorion humano con la IL-1b o el TNF-a produce una secreción dependiente de la dosis de la proenzima MMP-9, pero no produce su activación. La IL-1b es secretada por el corion después del reconocimiento de los patrones asociados con el patógeno por células locales, tales como macrófagos, células deciduales, células de amnios y trofoblastos, todos los cuales expresan TLR, IL-1b; esta citoquina parece tener una ruta de transporte intramembranosa porque pueden secretarse dentro del amnios, apareciendo en el líquido amniótico, aunque el ARNm para IL-1b solo se ha documentado en células de corion (tabla 3). Esta observación podría explicarse por la existencia de una vía intercelular actualmente indefinida, que garantizaría la secreción específica de citocinas y MMP (FORTUNATO; MENON; LOMBARDI,1999; ARECHA VALETA-VELASCO et al,2002; VADILLO-ORTEGA; ESTRADA-GUTIÉRREZ,2005; KUMAZAKI et al.,2005).

Tabla 3 - Citoquinas que regulan la expresión de MMP en amnios y corion. (Modificado de VADILLO-ORTEGA; ESTRADA-GUTIÉRREZ,2005)

Citoquina	Tejido diana	Resultado
IL-1beta	Células epiteliales Amnios	Incremento expresión y actividad MMP-9
	Trofoblasto	Secreción MMP-9
TNF-a	Células Corion	Expresión MMP-9
	Trofoblasto	Incremento actividad MMP-9 Disminución actividad MMP-2
	Células Amnios	Incremento secreción y actividad de MMP-9
IL-6	Trofoblasto	Incremento MMP-9 y actividad MMP-2

Las infecciones establecen una relación con las membranas fetales y la decidua, de tal manera que producen citoquinas que pueden secretar y activar MMPs, pero porque las infecciones tienen respuestas distintas en los organismos de las pacientes; en unas se trata la infección y se resuelve y la gestación continua normal, en otras se ocasiona ruptura de membranas y finalmente algunas presentan contracciones y amenaza de PP; la capacidad de un individuo para responder a un agente infeccioso de manera distinta, puede responder a una característica genética propia de la persona, por ejemplo cuando los embarazos están expuestos a la infección intrauterina y la madre tiene un polimorfismo (polimorfismo-1 de IL-1b) y los tejidos fetales llevan un alelo derivado del padre, que expresa un gen hiperreactivo (polimorfismo-2 de IL-1b), evidentemente la respuesta a la injuria infecciosa será grave, a partir de estas respuestas biológicas, se podría sugerir que cuando la madre y el feto están expuestos a la infección, el amnios y corion puede desarrollar una respuesta más alta que los tejidos maternos, lo que lleva a una activación preferencial de los mecanismos que inducen la degradación de componentes moleculares de la matriz extracelular en las membranas fetales (HERNÁNDEZ-GUERRERO et al.,2003; VADILLO-ORTEGA; ESTRADA-GUTIÉRREZ,2005).

La contribución de la variabilidad genética para PP se ha valorado para varios genes candidatos, divididos en dos grupos. El primer grupo comprende los genes que codifican los productos involucrados en la respuesta a la infección e inflamación, en el segundo grupo están los que participan en la remodelación de la matriz extracelular (PEREZA et al.,2014).

1.6.2. Metaloproteinasas de la matriz y cuello de útero

1.6.2.1. Estructura del cuello de útero

El cuello uterino, está compuesto por musculatura lisa (5-10%), el restante porcentaje es tejido conectivo con su composición de células y matriz extracelular que se sintetiza y secreta principalmente por los fibroblastos. Esta matriz extracelular consiste principalmente en agua (75-80%) y colágeno, este último comprende casi el 50% del peso seco y aproximadamente el 80% del contenido total de proteínas, de acuerdo al tipo de colágeno el 70% es del tipo I y el 30% del tipo III con una pequeña cantidad de colágeno tipo IV en la región de los vasos y musculatura lisa, la elastina está presente entre 0,9 a 2,4% y se encuentra localizada preferentemente en el orificio interno del útero; la consistencia del cuello uterino además, está determinada por proteoglicanos que contienen una proteína central a la que se unen covalentemente cadenas de glucosaminoglicanos no ramificadas. Estas macromoléculas contienen (80-90%) de carbohidratos, por su carga negativa, los glucosaminoglicanos se unen a grandes cantidades de agua y, por lo tanto, tienen un volumen relativamente grande en relación con su peso (WINKLER; RATH,1999).

El sulfato de dermatán es el glucosaminoglicano que representa (66%) en el cuello uterino, este es un componente de varios proteoglicanos, de los cuales, en particular la decorina, un pequeño proteoglicano (peso molecular de aproximadamente 36 kDa) cuya proteína del núcleo globular solo lleva una cadena de sulfato de dermatán, tiene un significado funcional especial. La decorina se une en una disposición ortogonal a las bandas d y e de las fibrillas de colágeno, fijando así esta última en una dirección lateral a distancias específicas, esto evita que se deslicen unos de otros sin control en una dirección longitudinal y, por lo tanto, contribuye de manera importante a la estabilidad de las fibras de colágeno.

La decorina se encuentra en el estroma de todos los niveles del útero, pero no en células epiteliales y musculares, también encontramos condroitina 4 y 6 sulfato, heparán sulfato 2, este último localizado predominantemente en membranas basales de células endoteliales y musculares (WINKLER; RATH,1999).

El agregan es importante para la consistencia del cuello uterino, ya que forma agregados con hialuronato, y se ubica entre las fibras de colágeno, se han encontrado agregados en la adventicia, elástica y el endotelio de los vasos, se ha encontrado dos proteoglicanos que contienen

sulfato de que ratán, que se localizan en el citoplasma del epitelio glandular y la mucosa cervical, y en el embarazo, en el estroma adyacente. La fibronectina es una glucoproteína que tiene dos funciones primero la unión entre esta y el colágeno, que depende de la concentración de hialuronato, y, por otro lado, proporciona protección para evitar la degradación del colágeno, por cuanto la posición de escisión enzimática es en el sitio de unión con la fibronectina (WINKLER; RATH,1999).

1.6.2.2. Las MMPs 2 y 9, su efecto en cuello del útero

La función del cuello uterino como órgano para mantener el embarazo aparentemente está garantizada por un metabolismo anabólico de colágeno y proteoglicanos que puede estar modulado por la influencia de los esteroides sexuales en los fibroblastos cervicales; la fase de maduración cervical, posiblemente iniciada por una disminución en la concentración del receptor de progesterona, se caracteriza por un primer episodio de procesos de transformación catabólica dentro de la matriz extracelular, estos implican principalmente una disminución en la concentración de glucosaminoglicanos sulfatados y un aumento de hialuronato, que resulta en una alteración de la arquitectura de las fibrillas de colágeno; la dilatación cervical necesita, procesos catabólicos del colágeno y otras proteínas de la matriz, una actividad reducida de progesterona en el segmento uterino inferior puede causar un aumento en la producción de IL-8, por los fibroblastos cervicales, que produce quimiotaxis el aumento de la producción de TNF-a e IL-1b, de los macrófagos activados induce una mayor expresión de moléculas de adhesión endotelial con la posterior extravasación de granulocitos en el estroma cervical y, la quimiotaxis y desgranulación de estas células en el estroma se debe a un incremento en la concentración de IL-8. El incremento de hialuronato es un inductor de la síntesis de IL-1b y TNF-a por diversas poblaciones de leucocitos, y estas dos citoquinas promueven la producción de IL-8 a partir de fibroblastos cervicales. Además, el aumento de la síntesis de IL-6 en estas células estimula la síntesis de prostaglandinas y leucotrienos que produce una dilatación de los vasos cervicales y extravasación de leucocitos, la desgranulación de los neutrófilos libera MMP que degradan el colágeno, cambian la proporción de decorina/colágeno favoreciendo la desestabilización de las fibras de este último, Dado que una acción sostenida de las enzimas proteolíticas puede provocar daño tisular, este proceso está estrictamente limitado en el tiempo y está controlado por las concentración creciente de TIMP-1 y

alfa 2-macroglobulina en el segmento uterino inferior con dilatación creciente (WINKLER; RATH,1999).

En el moco cervical la presencia de MMP-2 refleja la remodelación cervical no dependiente de leucocitos que ocurre al comienzo del embarazo, mientras que MMP-8 y MMP-9 están involucrados en la defensa contra infecciones ascendentes ubicadas principalmente en el compartimento distal del tapón de moco cervical, la elevación de MMP-8, MMP-9 e IL-8 en trabajo de PP puede indicar la participación de una infección intrauterina (BECHER et al.,2010).

En un modelo de ratón se inoculo por vía vaginal una dosis baja de lipopolisacáridos bacterianos, para inducir una respuesta inflamatoria en cérvix, que desencadene la remodelación cervical y PP. encontramos que el PP es iniciado por la activación del complemento C5a, el cual favorece la infiltración por macrófagos y neutrófilos, los cuales liberan MMP-9. A diferencia en el parto a término la caída de la progesterona, permite que los fibroblastos del estroma cervical y las células del epitelio columnar produzcan MMP-2 y MMP-9. Independientemente de los diferentes iniciadores y mediadores celulares, se ha identificado una vía común para PP y PA la cual implica la liberación de MMP y la degradación del colágeno. En conclusión, la remodelación cervical prematura y a término ocurren a través de los mismos mecanismos, pero son iniciados por diferentes estímulos y células efectoras (GONZALEZ et al.,2011; GONZALEZ; ROMERO; GIRARDI,2013).

1.6.3. Las MMPs y su efecto en el miometrio

A nivel del tejido miometrial, la respuesta es variable, por ejemplo, en modelos de ratas, el embarazo normal presenta, reducción de la contractilidad miometrial acompañado de un incremento de la expresión y actividad de MMPs. Los resultados son consistentes con la posibilidad de que el estiramiento miometrial, el aumento de hormonas sexuales durante el embarazo están asociados con una mayor expresión de MMP 2 y 9, que promueven la relajación uterina (YIN et al.,2012).

En un estudio en ratonas, MMP-9 producida endógenamente tiene un papel en la regulación de la contracción tisular de gel de colágeno, mediado por fibroblastos, esta regulación se realiza a través de la generación de TGF- β 1 activo (KOBAYASHI et al,2014).

Estudios en ratas Fischer, sugieren que MMP-9, además de su función proteolítica, tiene un efecto bifásico, en las células del músculo liso por medio de la contracción de gel de colágeno (DEFAWE et al.,2005).

Dependiendo de las concentraciones, MMP-2 y 9 pueden mejorar la respuesta contráctil inducida por oxitocina en el tejido uterino humano, los niveles elevados de MMP mejoran la contractilidad del miometrio y pueden contribuir al inicio del parto, las MMP pueden actuar sobre las moléculas de señalización para afectar su actividad y mediar las respuestas celulares, las MMP también pueden escindir sustratos del citoesqueleto, lo que aumenta la fuerza durante la contracción muscular, las modificaciones rápidas en las respuestas contráctiles sugieren que las MMP-2 y MMP-9, tendrían nuevos mecanismos de acción en el tejido uterino. La MMP9 tenía un efecto bifásico en la contracción, lo que podría explicar estas observaciones aparentemente contradictorias entre tejido miometrial humano y las ratas (ULRICH et al.,2019).

Realizando cultivos de miocitos humanos se demostró que la vía de señalización de IL-1b que induce la producción de COX 2 y MMP-9 en miometrio humano, es mediada por la activación del factor nuclear kappa beta (NF-kB), y esto producirá prostaglandinas que ocasionan contracción uterina (CHOI et al.,2007).

1.6.4. Las MMPs y su efecto en la placenta

Durante el embarazo normal, las vellosidades basales placentarias están firmemente unidas a la decidua, para anclar la placenta dentro del útero, esto depende de la interacción célula-célula y célula-matriz extracelular; a medida que se produce el parto, el desprendimiento de la placenta requiere la degradación de la matriz, proceso en el que están involucradas las MMPs (XU; ALFAIDY; CHALLIS,2002).

El tejido placentario en labor de parto, tiene altos niveles de MMP-9 en comparación con la placenta de mujeres sin labor de parto; es probable que esta MMP-9 provenga principalmente del sincitiotrofoblasto de las vellosidades placentarias. El aumento de MMP-9 puede facilitar la separación placentaria del tejido materno durante la labor de parto. La MMP-2 también se detectó en extractos de tejido placentario y membranas fetales, su nivel no cambió en las pacientes con y sin labor de parto. Esta expresión diferente de MMP-2 y MMP-9, puede explicarse por el hecho de que la MMP-2 es una enzima expresada constitutivamente, mientras que MMP-9 se considera

inducible. Con el inicio del trabajo de parto, se han implicado varios compuestos como prostaglandinas, TNF-a y IL-1, las cuales pueden en el proceso de labor de parto, incrementar los niveles de MMP-9 en las membranas fetales y la placenta. Por lo tanto, el aumento de MMP-9 asociado al trabajo de parto en las membranas fetales y la placenta puede deberse a su mayor expresión en células de linaje predominantemente trofoblástico en respuesta a estas hormonas, prostaglandinas y citocinas como TNF-a e IL- 1 (XU; ALFAIDY; CHALLIS,2002; YONEMOTOA et al.,2006).



2. Justificación

El PP, constituye una importante causa de morbilidad y mortalidad a corto y largo plazo, con consecuencias que determinan problemas en el resto de la vida del ser humano, con altos costos para el sistema de salud en cualquier lugar del mundo.

Los factores de riesgo están definidos en su mayoría, la fisiopatología tiene muchas explicaciones todas lógicas, pero ninguna es única, existe por tanto múltiples causas que pueden formar parte de un mismo cuadro clínico.

Existe al final un camino común para el PP independiente de la etiología, que está constituido por las modificaciones cervicales, la ruptura prematura de membranas y las contracciones uterinas, por tanto, encontrar ese factor común clínico o laboratorio que nos permita predecir la patología es el objetivo final.

Siempre la prevención y la predicción serán superiores al tratamiento de la patología, por tanto, es necesario encontrar otro marcador relacionado con el PP a más de la longitud cervical, el cual tiene la limitante de ser operador dependiente; que nos permita con más facilidad y valorando otras vías, encontrar esas pacientes que se beneficiarían de un tratamiento en hospitales especializados.



3. Objetivos

3.1. Objetivo general

- Relacionar los niveles en plasma y en secreción vaginal de MMP-2 y MMP-9 entre las 20 y 25 semanas de edad gestacional, con el parto prematuro.

3.2. Objetivos específicos

- Relacionar los niveles en plasma y en secreción vaginal de MMP-2 y MMP-9 entre las 20 y 25 semanas de edad gestacional, con el parto prematuro espontáneo.
- Relacionar los niveles en plasma y en secreción vaginal de MMP-2 y MMP-9 entre las 20 y 25 semanas de edad gestacional, entre parto prematuro espontáneo y parto prematuro no espontáneo.
- Evaluar la relación entre las MMP-2 y MMP-9 con otras variables consideradas de riesgo para parto prematuro.
- Establecer si las MMP-2 y MMP-9 pueden utilizarse como predictoras de parto prematuro.



4. Pacientes y Métodos

4.1. Diseño y área de estudio

Este es un estudio de caso y control con tres análisis, anidado en una cohorte prospectiva. La cohorte se describe en el proyecto temático titulado "Factores etiológicos del parto prematuro y consecuencias de los factores perinatales en la salud infantil: cohortes de nacimiento en dos ciudades brasileñas: BRISA". Fue desarrollado en Ribeirão Preto (SP), uno de los estados más ricos de la federación, y en São Luís (MA), el segundo estado más pobre del país. Para este estudio, solo se consideraron los datos de Ribeirão Preto (SP). Su población en 2010 era de 612.340 habitantes (DATASUS).

La ciudad de Ribeirão Preto está ubicada en una región rica e industrializada y tenía un IDH (Índice de Desarrollo Humano) de 0.855 en 2000, ocupando el sexto lugar en el Estado de São Paulo y el 22 en Brasil. Una de las ciudades más desarrolladas del país, tiene el 99% de los hogares abastecidos con agua corriente y alcantarillado sanitario. Su principal actividad económica es el agronegocio de la caña de azúcar, así como el comercio y los servicios. También es un centro universitario regional por excelencia (BARBIERI et al, 2007).

4.1.1. Estudio de la población y cálculo de la muestra

Las evaluaciones prenatales se realizaron en HC-FMRPUSP. Se estudiaron todas las mujeres embarazadas y sus recién nacidos que habían participado en la evaluación prenatal del proyecto temático en Ribeirão Preto. Esta es una muestra de conveniencia (cohorte anidada) del proyecto temático y su cálculo fue basado en las prevalencias reportadas de las variables explicativas que son el tema del proyecto inicial, que van del 10 al 50%. Por lo tanto, considerando una tasa de prematuridad del 12%, se reclutaron 3000 mujeres (1500 en cada ciudad), lo que debería conducir a un total de 360 casos de bebés prematuros para el proyecto temático con una probabilidad de error tipo I de 5%, poder de 80% para detectar un OR de 1.7 asociados con prevalencia de las variables explicativas, tan bajas como 12%, incluso en presencia de confusión moderada (OR de 1.8 para confusión).

Para este estudio, partimos de la muestra de Ribeirão Preto, es decir, 1500 mujeres. El estudio totalizó 1417 mujeres embarazadas, teniendo en cuenta las pérdidas y la falta de información, la muestra estaba compuesta efectivamente por 1370 parejas de madres e hijos y un

total de 133 nacimientos prematuros, 4 fueron excluidos del estudio debido a insuficiencia o imposibilidad de análisis de los marcadores en plasma (muestra no recogida, muestra inadecuada), de los 129 casos de PP se logró por medio de cuestionario obtener información de 95 pacientes y vía telefónica de 7, obteniendo un total de 102, de los cuales se determinó que 70 fueron PP espontáneos y 59 PP no espontáneo o por indicación médica; los tres análisis siguientes fueron efectuados:

1.PP en comparación a PA: para ello 129 pacientes fueron consideradas caso, el grupo de control está formado por 258 pacientes que fueron seleccionados por sorteo aleatorio simple sin reemplazo del resto de la cohorte, en relación 2:1 dos controles por cada caso.

2.PP espontáneo en comparación a PA: para ello 70 pacientes fueron consideradas caso, el grupo de control está formado por 258 pacientes que fueron seleccionados por sorteo aleatorio simple sin reemplazo del resto de la cohorte.

3.PP espontáneo en comparación a PP no espontáneo: para ello 70 pacientes fueron consideradas caso y comparadas con 59 pacientes con PP no espontáneo.

Entre todos los datos disponibles de los pacientes de la cohorte prenatal, optamos por analizar datos que podrían influir en la cantidad de PP: edad materna, paridad, tabaquismo y antecedente de prematuridad en embarazos previos.

4.1.2. Criterios de inclusión y exclusión

Primer análisis

Caso:

Se incluyeron gestantes:

- Residentes en Ribeirão Preto;
- Embarazo único;
- Evaluado en la etapa prenatal;
- Mujeres embarazadas entre 20 y 25 semanas y 6 días de edad gestacional;
- Edad gestacional al parto hasta las 36semanas 6 días
- Aceptar participar en la investigación y firmar el Formulario de consentimiento informado.

Se excluyeron los siguientes:

- Embarazo múltiple;

- Fetos con malformaciones congénitas o síndromes cromosómicos diagnosticados antes 20 semanas o en el momento de la recopilación de datos prenatales (confirmado con ultrasonido).
- Pérdida de seguimiento entre la evaluación prenatal y de nacimiento;
- Participantes con información incompleta.

Control:

Los mismos criterios anteriores, con excepción de la edad gestacional al parto, que debe ser desde 37 semanas en adelante.

Segundo análisis

Caso:

Se incluyeron gestantes:

- Residentes en Ribeirão Preto;
- Embarazo único;
- Evaluado en la etapa prenatal;
- Mujeres embarazadas entre 20 y 25 semanas y 6 días de edad gestacional;
- Edad gestacional al parto hasta las 36semanas 6 días
- Presencia espontánea de contracciones uterinas y/o ruptura prematura de membranas previo al inicio de labor de parto
- Aceptar participar en la investigación y firmar el Formulario de consentimiento informado.

Se excluyeron los siguientes:

- Embarazo múltiple;
- Fetos con malformaciones congénitas o síndromes cromosómicos diagnosticados antes 20 semanas o en el momento de la recopilación de datos prenatales (confirmado con ultrasonido).
- Pérdida de seguimiento entre la evaluación prenatal y de nacimiento;
- Participantes con información incompleta.

Control:

Los mismos criterios anteriores, con excepción de la edad gestacional al parto, que debe ser desde 37 semanas en adelante y la terminación del parto espontánea o por indicación.

Tercer análisis

Caso:

Se incluyeron gestantes:

- Residentes en Ribeirão Preto;
- Embarazo único;
- Evaluado en la etapa prenatal;
- Mujeres embarazadas entre 20 y 25 semanas y 6 días de edad gestacional;
- Edad gestacional al parto hasta las 36 semanas 6 días
- Presencia espontánea de contracciones uterinas y/o ruptura prematura de membranas previo al inicio de labor de parto
- Aceptar participar en la investigación y firmar el Formulario de consentimiento informado.

Se excluyeron los siguientes:

- Embarazo múltiple;
- Fetos con malformaciones congénitas o síndromes cromosómicos diagnosticados antes 20 semanas o en el momento de la recopilación de datos prenatales (confirmado con ultrasonido).
- Pérdida de seguimiento entre la evaluación prenatal y de nacimiento;
- Participantes con información incompleta.

Control:

Los mismos criterios anteriores, con la modificación de que el parto debe ser no espontáneo y/o por indicación médica, por tanto, excluimos la presencia de contracciones uterinas y/o ruptura prematura de membranas previo al inicio de labor de parto.

4.2. Recopilación de datos

4.2.1. Cuestionario prenatal

-Se utilizó un cuestionario estandarizado para la recopilación de datos, las preguntas fueron dirigidas a las mujeres embarazadas, en base a su consentimiento.

-Se adoptó como criterio para estimar la edad gestacional, el primer día del último ciclo menstrual (FUM), y fue expresada en semanas y días completos, confirmado por ultrasonido gestacional realizado antes de las 20 semanas de embarazo, minimizando el sesgo de medición en la estimación del resultado.

4.2.2. Examen ginecológico

Después de la entrevista y la aplicación de los instrumentos de medición psicosocial, las mujeres se sometieron a un examen ginecológico con un espéculo desechable. Durante este examen, se recolectó material para medir el pH vaginal, además tres recolecciones más, la primera de material vaginal se realizó con un hisopo que se sumergió en un tubo de ensayo que contenía solución salina y se usó para un examen en fresco. Del hisopo de la segunda colecta, se hicieron dos portaobjetos y se examinaron después de la tinción de Gram. El criterio de diagnóstico para VB, fue la puntuación Nugent y/o la presencia de células clave. El criterio desarrollado por Nugent, Krohn y Hillier en 1991 es la tinción de Gram del frotis de contenido vaginal, con el recuento de los morfotipos existentes de Lactobacilos, Gardnerellas/Bacteroides y Mobiluncus. Los tipos morfológicos se cuantificaron de 1+ a 4+ de acuerdo con el número de microorganismos por campo y se sumaron. Un puntaje igual o superior a siete se consideró positivo para VB. Los puntajes 4-6 (intermedio) y 0-3 (normal) se consideraron normales. (NUGENT et al, 1991; HONEST et al, 2004; KLEBANOFF et al, 2005).

Durante el mismo examen vaginal se obtuvo la tercera muestra de secreción del fondo de saco vaginal posterior, para cuantificar MMP-2 y MMP-9, para lo cual se recolectaron 0,5 ml de la secreción vaginal utilizando la espátula Aires, se almacenó en tubos eppendorf con 1 ml de solución salina, las muestras se transportaron al laboratorio en una caja térmica, sumergidas (envueltas) en hielo, para asegurar una temperatura baja. Los crio tubos identificados, que contienen el cepillo de recolección y la secreción vaginal, se almacenaron en las cajas identificadas del Biobanco del Proyecto BRISA y se almacenaron en el congelador a temperatura ultra baja a -80°C .

Las muestras seleccionadas para el análisis se tomaron del congelador a -80°C y se almacenaron en el congelador a -20°C durante 24 horas y finalmente se mantuvieron en hielo hasta el momento del análisis, se retiraron los cepillos y se homogeneizó el material en el agitador de tubo Phoenix AP59 justo antes de analizarlo. El análisis de la muestra se realizó mediante técnica de ELISA.

Para MMP-2, mediante Quantikine ELISA Human MMP-2 Immunoassay catalog number DMP2f0, R&D Systems, unidad de medida del resultado nanogramo/mililitro (LEMANCEWICZ et al.,2007; BECHER et al., 2010). Para MMP-9, mediante ELISA Kit Human MMP-9 catalog number KHC3061 invitrogen, unidad de medida del resultado picogramo/mililitro

(BECHER et al., 2010; REYNA-VILLASMIL et al.,2017). Para los dos análisis se utilizó el equipo Spectra Max M3 y el software de análisis SoftMax Pro 6.2.1, ambos de Molecular Devices.

4.2.3. Muestra de orina

Se recogió orina del chorro medio para cultivo, ya que este método es el estándar de oro validado para la investigación de bacteriuria asintomática y la detección de infección del tracto urinario (MCNAIR et al, 2000). Por lo tanto, el diagnóstico de ITU se basó en el examen complementario en un intento de rastrear casos de BA. Se realizaron exámenes microbiológicos y bioquímicos en laboratorios específicos de HC-FMRPUSP.

4.2.4. Muestra de sangre venosa

Se colectaron 40 ml de sangre en dos tubos que contienen EDTA por punción venosa. Las muestras se transportaron al laboratorio en una caja térmica, sumergidas (envueltas) en hielo, para asegurar una temperatura baja, los tubos de recolección de sangre identificados se centrifugaron a 3.500 rpm durante 10 minutos a 4°C en la centrífuga refrigerada Hettich. El plasma obtenido de cada participante se almacenó en un crio tubo identificado, se colocó en las cajas identificadas del biobanco del Proyecto BRISA y se almacenó en el congelador de ultra baja temperatura a -80°C.

Las muestras seleccionadas para el análisis se tomaron del congelador a -80°C y se almacenaron en el congelador a -20°C durante 24 horas y finalmente se mantuvieron en hielo hasta el momento del análisis. El tubo que contiene plasma se homogeneizó en el agitador de tubo Phoenix AP59 justo antes del análisis, el cual se realizó mediante técnica de ELISA.

Para MMP-2, mediante Quantikine ELISA Human MMP-2 Immunoassay catalog number DMP2f0, R&D Systems, unidad de medida del resultado nanogramo/mililitro (KOUCKY et al.,2010).

Para MMP-9, mediante ELISA Kit Human MMP-9 catalog number KHC3061 invitrogen, unidad de medida del resultado picogramo/mililitro (KOUCKY et al.,2010; SOROKIN et al.,2010).

Para los dos análisis se utilizó el equipo Spectra Max M3 y el software de análisis SoftMax Pro 6.2.1, ambos de Molecular Devices.

4.2.5. Examen de ultrasonido

Los exámenes ecográficos fueron realizados por cinco observadores entrenados y calibrados con respecto al método, obedeciendo los criterios de la técnica utilizada para realizar el examen, sistematizada y validada por la Fetal Medicine Foundation (CELIK et al, 2008).

Los exámenes de ultrasonido siempre se realizaron con el equipo: Modelo HDI 11, marca HDI en la Unidad de Investigación Clínica HC-FMRPUSP; las imágenes han sido documentadas y archivadas en sus propios discos duros.

Como la asociación de cuello corto y PP está bien establecida en la literatura, todos los pacientes diagnosticados con un cuello uterino menor de 2.5 cm fueron remitidos a un servicio de referencia.

4.2.6. Resultado

-Al nacer se recopilaron los siguientes datos: fecha de nacimiento y edad gestacional al nacer. La ecografía se adoptó como el estándar de oro como criterio para estimar edad gestacional, minimizando el sesgo de medición en la estimación del resultado, determinando como PP aquel que se produce hasta las 36semanas 6 días.

-Cuestionario posparto (ANEXO)

Se utilizó un cuestionario estandarizado para la recopilación de datos. Las preguntas fueron dirigidas a las madres, después de su consentimiento. A través de la evaluación de este cuestionario, analizando respuestas tales como: presencia de contracciones dolorosas que preceden al parto, salida espontánea de líquido, se pudo determinar si el parto fue espontáneo.

-Contacto telefónico

Se intentó el contacto telefónico con todos los pacientes de los cuales no obtuvimos información sobre el parto, para saber si fue espontáneo mediante el uso del cuestionario.

4.3. Procesamiento y análisis estadístico

Se desarrolló un plan de codificación y un manual, transformando todas las variables de respuesta de los cuestionarios en una clasificación numérica para su posterior escritura en la base de datos. Los cuestionarios fueron codificados por personas capacitadas y calificadas. La codificación fue verificada por el supervisor de campo, mediante una técnica de muestreo (10% del total de registros) para detectar errores sistemáticos en esta fase del proceso. A medida que se verificaron, estos fueron insertados en la base de datos por dos mecanógrafos. La base de datos se creó en MS-Access 2010. Esta base de datos vinculó las variables maternas y neonatales con el número de identificación proporcionado durante la evaluación prenatal, lo que permitió un mayor control de los datos. Todas las variables que componen la base de datos pasaron pruebas de consistencia en la entrada de datos.

El análisis estadístico, para obtener curvas ROC (receiver operator characteristic curve) y determinar valores de corte de MMPs, se realizó utilizando el software STATA.

Posteriormente, se efectuó un análisis exploratorio de los datos considerando las medidas de tendencia central y dispersión. Las variables cualitativas se presentaron considerando frecuencias absolutas y relativas en relación con el PP. Se realizaron gráficos de box-plot para verificar la distribución de MMP en relación con el resultado.

Se realizaron modelos de regresión logística para estimar las razones de probabilidad (OR) crudas y ajustadas para verificar qué variables están relacionadas con el resultado. Estimamos las medidas de test diagnóstico de las variables MMP-2 plasma y MMP-9 plasma, en relación con el PP, para esto se utilizó el software SAS versión 9.4.

Se realizó también, un árbol de inferencia condicional para verificar qué factores están asociados con el PP. El árbol de inferencia condicional es una clase de regresión no paramétrica que incorpora modelos de regresión estructurados en árbol dentro de una estructura bien definida de procedimientos de inferencia condicional. Se aplica a todo tipo de modelos estadísticos, modelos específicos para variables dependientes cuantitativas o cualitativas (HOTHORN; ZEILEIS,2015). Inicialmente, se verificó la relación univariante entre las MMPs y el PP, luego se construyeron 4 modelos más; el análisis se realizó utilizando el software R versión 3.6.1.

4.3.1. Variables

4.3.1.1. Variables Independientes

- Metaloproteinasa 2 (MMP-2) en plasma valor en ng/ml
- Metaloproteinasa 2 (MMP-2) en secreción vaginal valor en ng/ml
- Metaloproteinasa 9 (MMP-9) en plasma valor en pg/ml
- Metaloproteinasa 9 (MMP-9) en secreción vaginal en pg/ml

4.3.1.2. Variables de Confusión

Se definieron de acuerdo con su relación con los riesgos de PP, como se informa en la literatura (BEZERRA et al, 2006; GOLDENBERG et al.,2008; GRANTZ et al, 2015; FREY; KLEBANOFF,2015):

- Cuello: mayor que 2.5 cm y menos de 2.5 cm;
- Infección tracto urinario (ITU): presencia o ausencia;
- Vaginosis bacteriana (VB): presencia o ausencia;
- Edad: menores de 19 años; entre 19 y 35 años de edad; mayor de 35 años.
- Paridad: 1, 2 y 3, 4 o más hijos;
- Hábito de fumar: fuma o no;
- Antecedente de parto prematuro anterior: ninguno, 1, 2 o más.

4.4. Aspectos éticos

Este proyecto fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Universidad de São Paulo en la Facultad de Medicina Ribeirão Preto Hospital das Clínicas (HC-FMRPUSP) en 2008, número de proceso 11157/2008. (ANEXO). Todos los participantes recibieron y firmaron el Formulario de Consentimiento Informado, y el equipo de recolección de campo respondió a todas sus preguntas.



5. Resultados

El análisis de los resultados lo dividiremos en cuatro secciones, en la primera analizaremos las MMPs 2 y 9 en relación a PP comparado con el PA, en la segunda las mismas variables independientes y de confusión en relación a PP espontáneo en comparación con PA, en la tercera el PP espontáneo en relación con el PP no espontáneo y en la cuarta condensamos la información de las tres comparaciones.

5.1. Descripción del análisis de los resultados de la primera sección

El total de nuestra población lo constituyo, 1370 pacientes de las cuales 129 tuvieron un parto antes de las 37 semanas, que lo consideramos PP, y representa el 9.4%; de estas 129 pacientes 70 fueron PP espontáneos que corresponde 5.10 %.

5.1.1. Análisis parto prematuro en relación a parto a término

En nuestro estudio caso control, los 129 PP fueron comparados con 258 PA, para determinar la relación con MMPs 2 y 9, y otras variables socio demográficas, clínicas y laboratoriales, mediante estadística descriptiva e inferencial.

5.1.1.1. Estadística descriptiva

En la (tabla 4), podemos determinar que al comprar las características de los dos grupos encontramos diferencia estadísticamente significativa en relación al hábito de fumar, longitud cervical menor de 2.5cm y antecedente de PP, presentes en mayor proporción en el grupo de PP.

Tabla 4 - Comparación de las características maternas gestacionales, ultrasonográficas, laboratoriales entre parto prematuro y parto a término.

Características	Parto Prematuro		P
	Si (n = 129)	No (n = 258)	
Edad Materna (años), n (%)	14 (10.85)	21 (8.14)	0.559 ^a
<19	104 (80.63)	219 (84.88)	
19-35	11 (8.52)	18 (6.98)	

>35			
Paridad n (%)			
1	40 (33.05)	109 (42.25)	0.145 ^a
2 - 3	56 (46.29)	118 (45.74)	
≥ 4	25 (20.66)	31 (12.02)	
Tabaquismo n (%)	46 (35.6)	54 (20.93)	0.001 ^a
Vaginosis Bacteriana n (%)	20 (15.6)	40 (15.7)	0.987 ^a
Antecedente de PP n (%)	88 (68)	23 (8.9)	<0.001 ^a
Urocultivo positivo n (%)	16 (12.5)	27(10.4)	0.549 ^a
Cuello uterino >2.5 cm	19 (14.8)	12 (4.6)	0.001 ^a
Edad Gestacional(días), media (DE)	241.3 (20.2)	276.5 (8.5)	<0.001 ^b

^a: Chi square test; ^b: Student t test; DE: desviación estándar.

En la (tabla 5) podemos determinar que las medias y medianas de la MMP-9 en plasma de los casos es superior al control, en cuanto a la MMP-2 en plasma por el contrario, los valores de media y mediana son inferiores en los casos; la media y mediana de los valores de la MMP-9 vaginal es inferior en los casos y por último la media de MMP-2 vaginal es inferior en los casos, en lo referente al valor de la mediana prácticamente no hay diferencia.

Tabla 5 - Comparación medidas tendencia central y de dispersión de las MMPs en parto prematuro y parto a término.

	G	MA	m	DE	M	QI	QS	VM	VMx
MMP-2 plasma	Caso	128	232.61	109.25	220.48	157.45	298.98	29.91	483.39
MMP-2 vaginal		127	17.46	47.77	3.88	1.47	8.67	0.03	259.24
MMP-9 plasma		128	96.10	51.34	87.16	56.08	133.17	5.69	211.93
MMP-9 vaginal		124	171.04	153.44	158.20	39.49	218.75	1.90	823.93
MMP-2 plasma	Control	258	258.21	88.65	253.97	192.61	318.00	8.78	495.83
MMP-2 vaginal		256	34.51	77.60	3.32	0.97	8.69	0.00	366.65
MMP-9 plasma		258	57.99	28.12	53.28	37.21	74.24	0.86	151.00
MMP-9 vaginal		253	190.32	160.60	173.97	39.17	310.53	1.24	679.07

G: grupo; MA: muestras analizadas; m: media; M: mediana; DE: desviación estándar; QI: cuartil inferior; QS: cuartil superior; VM: valor mínimo; VMx: valor máximo.

Estas diferencias podemos observarlas de mejor manera en los box-plot que tenemos a continuación, algo que llama la atención es la gran dispersión de los datos en la variable MMP-2 vaginal tanto en casos y controles.

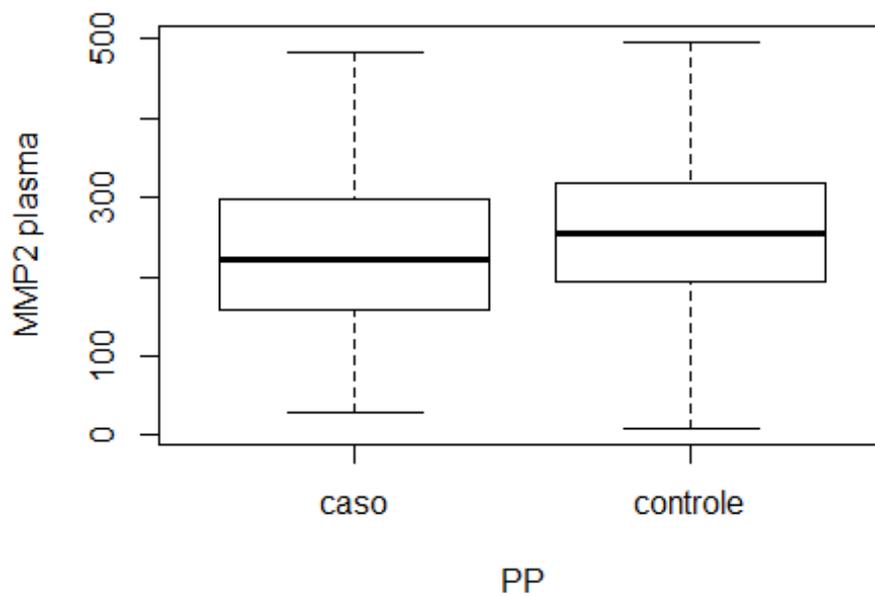


Figura 6: Box-plot MMP-2 en plasma, en parto prematuro y parto a término.

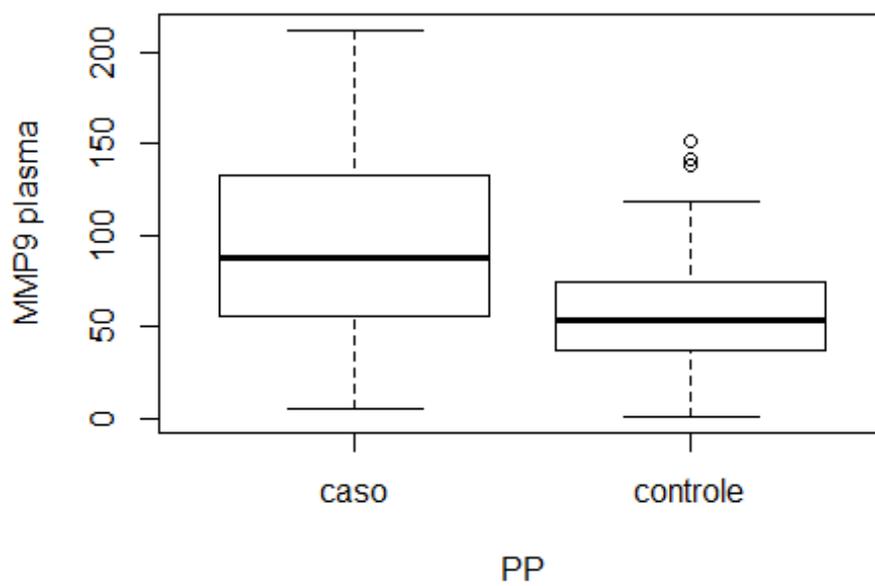


Figura 7: Box-plot MMP-9 en plasma, en parto prematuro y parto a término.

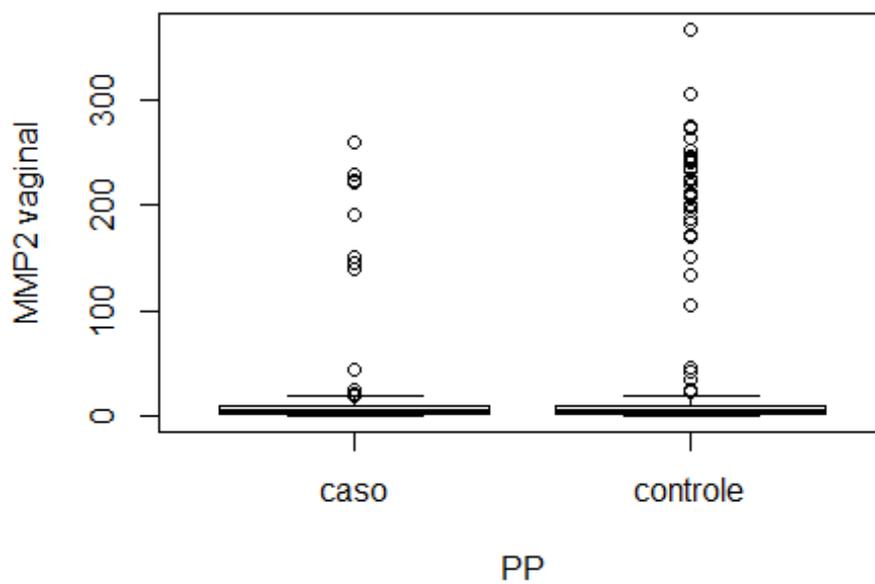


Figura 8: Box-plot MMP-2 en secreción vaginal, en parto prematuro y parto a término.

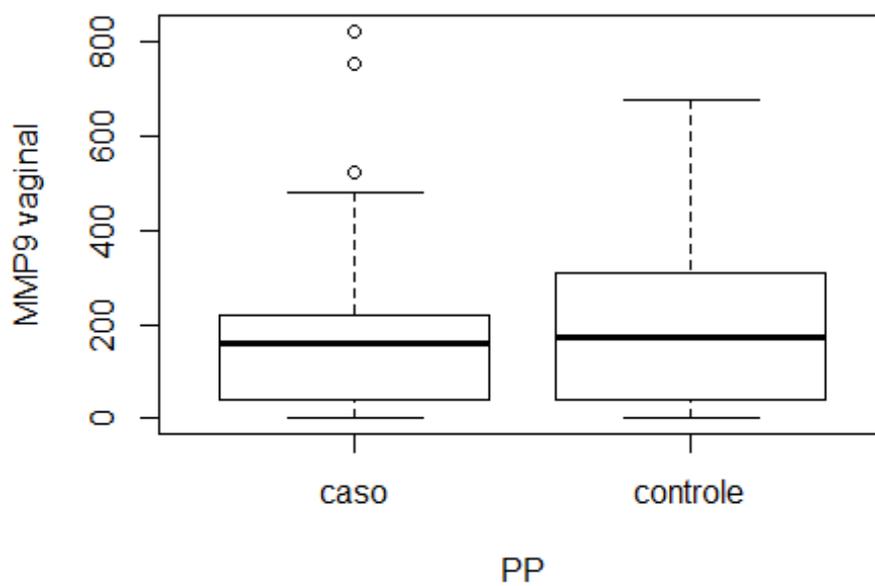


Figura 9: Box-plot MMP-9 en secreción vaginal, en parto prematuro y parto a término.

5.1.1.2. Test de normalidad aplicado a los valores de las MMPs

Con el objetivo de poder comparar los valores de tendencia central entre las MMPs en plasma y secreción vaginal, realizamos histogramas y test de normalidad, encontrando como podemos observar en la (figura 10) que solo la MMP-2 en plasma sigue una distribución normal, el resto de MMPs no siguen una curva de distribución normal (figura 11,12,13).

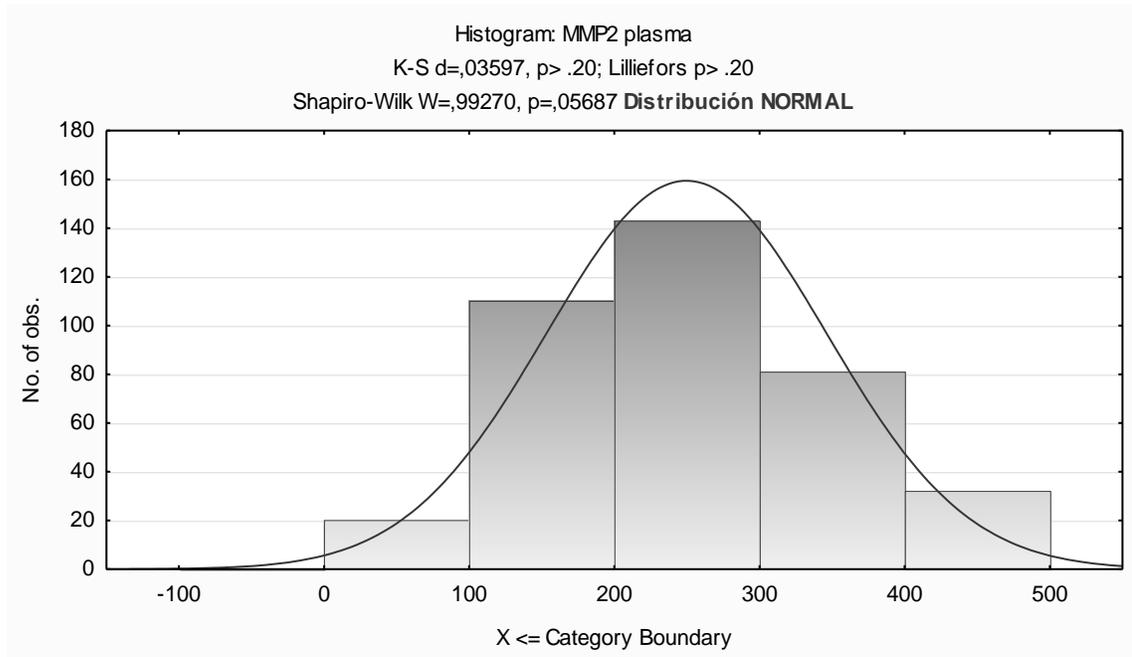


Figura 10: Histograma y test de normalidad de MMP-2 en plasma.

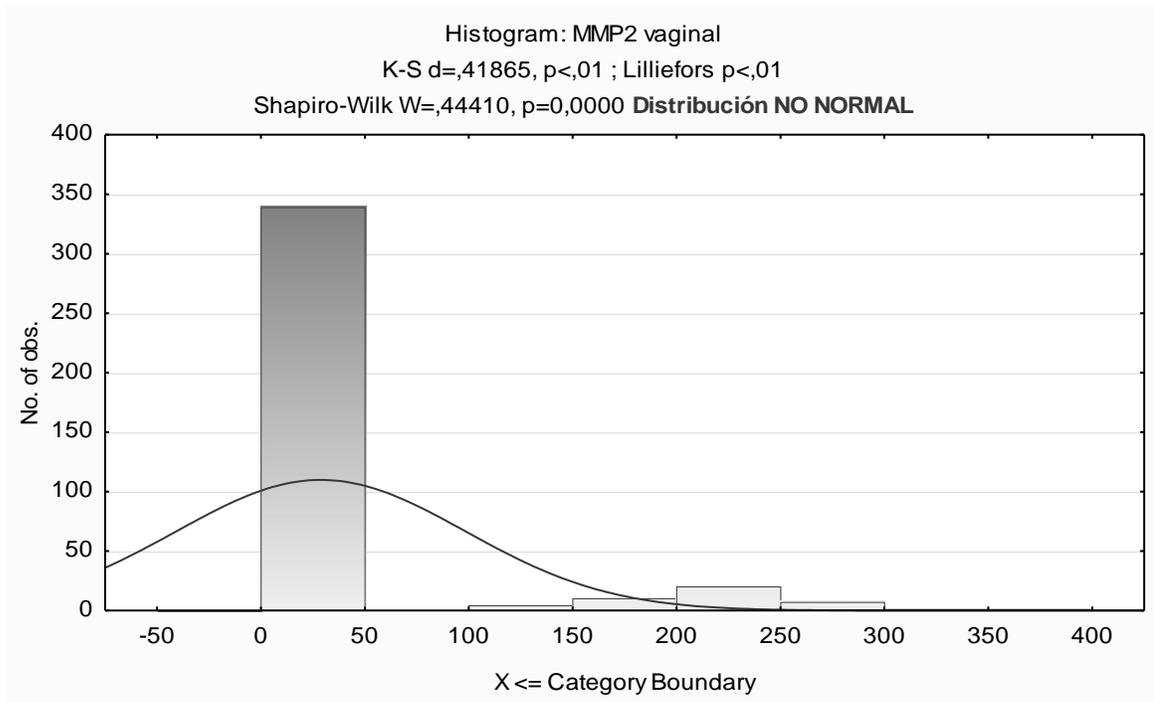


Figura 11: Histograma y test de normalidad de MMP-2 en secreción vaginal

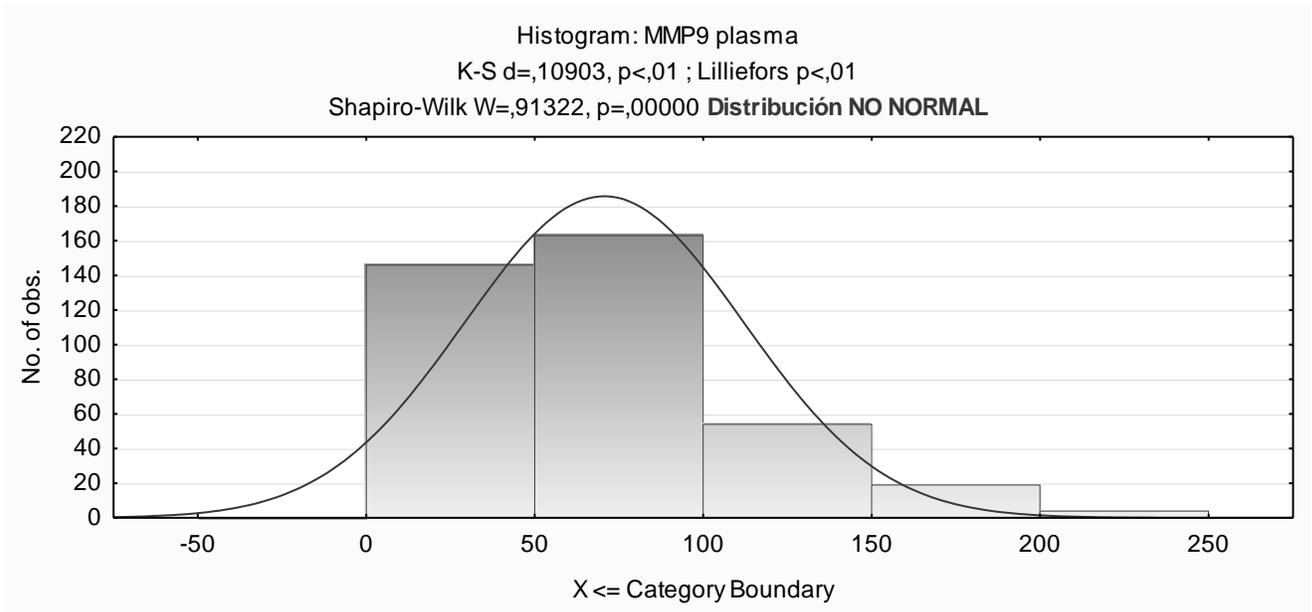


Figura 12: Histograma y test de normalidad MMP-9 en plasma.

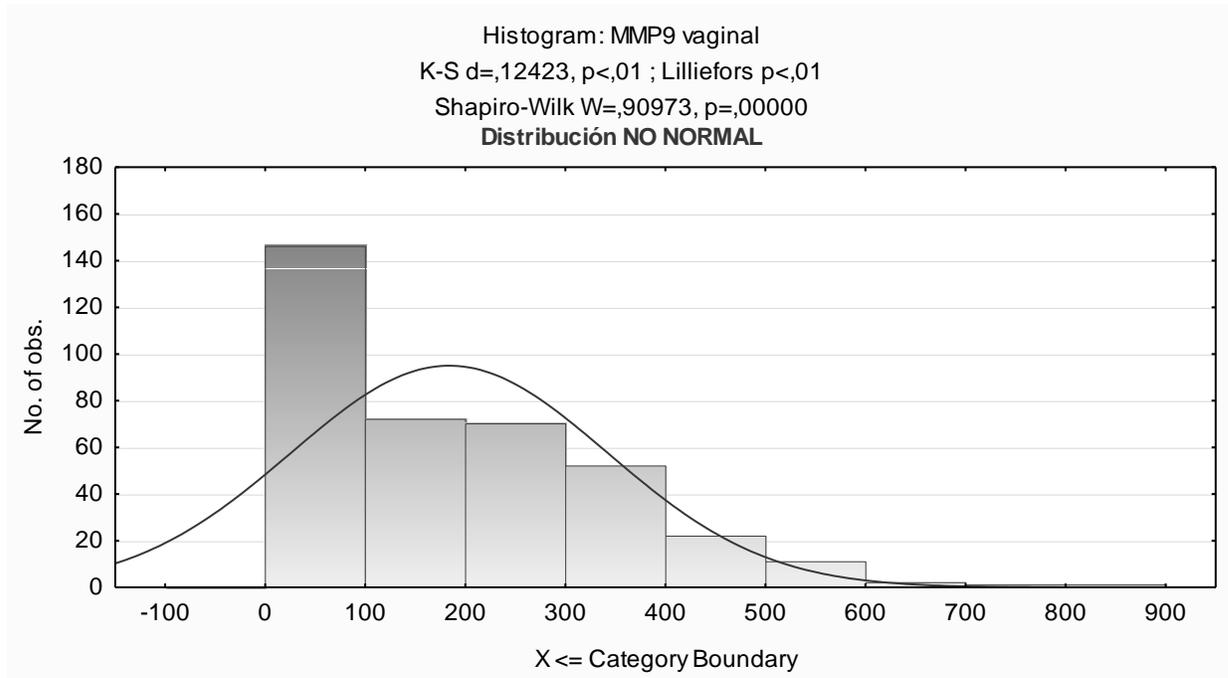


Figura 13: Histograma y test de normalidad MMP-2 en secreción vaginal.

De acuerdo, a la distribución de normalidad o no de las variables (tabla 6), escogimos el test t de student para comparar las medias de MMP-2 en plasma entre el grupo caso y control encontrando un valor p estadísticamente significativo; para la MMP-2 en secreción vaginal, la MMP-9 en plasma y la MMP-9 en secreción vaginal, utilizamos sus medianas y aplicamos el test Mann-Whitney, encontrando un valor p estadísticamente significativo solo en MMP-9 en plasma.

Tabla 6 - Concentración de MMPs en plasma y secreción vaginal, en parto prematuro y parto a término.

Metaloproteinasas	Parto Prematuro (n = 129)	Parto A término (n = 258)	p
MMP2, plasma, media (ES)	232.6 (9.6)	258.2 (5.5)	0.014 ^a
MMP2, vaginal, mediana (IIQ)	3.88 (7.20)	3.31 (7.7)	0.438 ^b
MMP9, plasma, mediana (IIQ)	87.1 (77.0)	53.2 (37.0)	<0.001 ^b
MMP9, vaginal, mediana (IIQ)	158.1 (179.2)	173.9 (271.3)	0.309 ^b

^a: Student t test; ^b: Mann-Whitney test; IIQ: intervalo Inter cuartil; ES: error estándar.

5.1.1.3. Elaboración de curvas ROC para los valores de las MMPs

El siguiente paso, es encontrar un valor de corte para nuestras variables independientes en este caso las cuatro MMPs, para esto elaboramos curvas ROC de cada una de ellas y determinamos el mejor valor de acuerdo a: la especificidad, sensibilidad, LR+ y LR-; el área bajo la curva de la MMP-9 en plasma fue de 0.7254, que determinó a esta variable, como la mejor opción como test predictivo en comparación a las restantes MMPs del estudio.

En la (figura 14) representamos la curva ROC para la MMP-2 en plasma, obteniendo un área bajo la curva de 0.4143, con un error estándar de 0.0325 y un IC 95% (0.364 - 0.465), con un valor $p > 0.05$, no estadísticamente significativo; para la precisión diagnóstica se escogió como punto de corte 239.4 ng/ml, con una sensibilidad del 44.53% y una especificidad del 41.86%, correctamente clasificado en 42.75%, LR+ 0.765, LR-1.325.

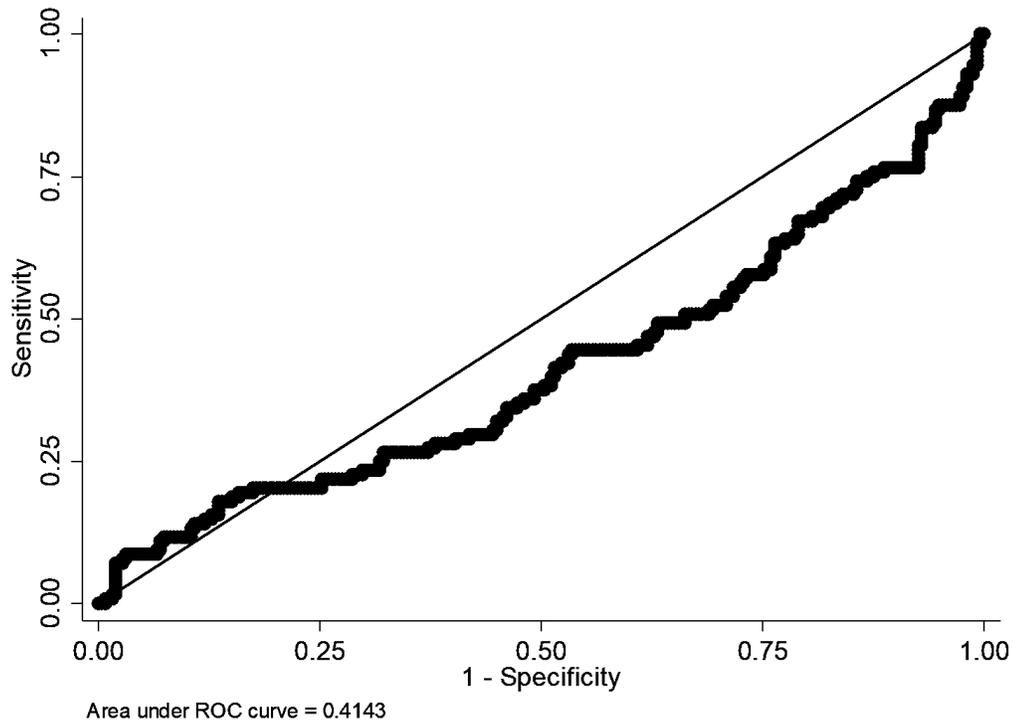


Figura 14: Curva operador- receptor para las concentraciones en plasma de MMP-2 para la predicción de parto prematuro.

En la (figura 15) representamos la curva ROC para la MMP-2 en secreción vaginal, obteniendo un área bajo la curva de 0.5243, con un error estándar de 0.0303 y un IC 95% (0.473 - 0.575), con un valor $p > 0.05$, no estadísticamente significativo; para la precisión diagnóstica se escogió como punto de corte 3.22 ng/ml, con una sensibilidad del 52.76% y una especificidad del 48.44%, correctamente clasificado en un 49.87%, LR+ 1.023, LR-0.975.

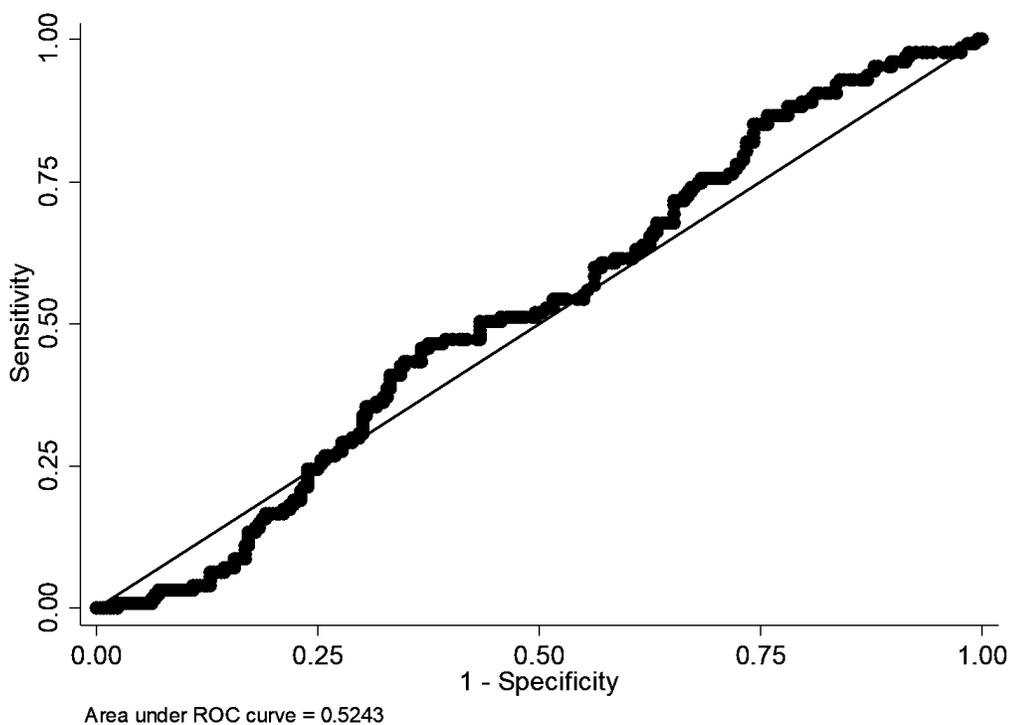


Figura 15: Curva operador- receptor para las concentraciones en secreción vaginal de MMP-2 para la predicción de parto prematuro.

En la (figura 16) representamos la curva ROC para la MMP-9 en plasma, obteniendo un área bajo la curva de 0.7254, con un error estándar de 0.677 y un IC 95% (0.677 - 0.769), con un valor $p < 0.05$, estadísticamente significativo; para la precisión diagnóstica se escogió como punto de corte 63.25 pg/ml, con una sensibilidad del 66.41% y una especificidad del 62.40%, correctamente clasificado en un 63.73%, LR+ 1.76, LR-0.53; obtuvimos un segundo punto de corte 119.3pg/ml, con una sensibilidad de 33.59% y una especificidad del 98.45%, correctamente clasificado en un 76.94%, LR + 21.66, LR- 0.67.

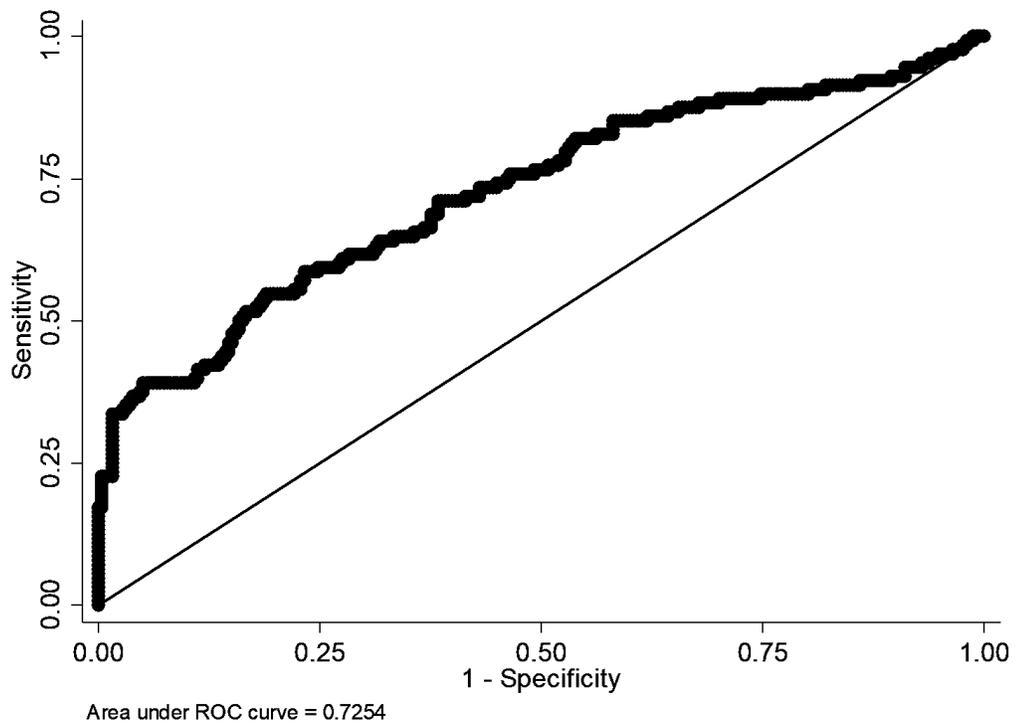


Figura 16: Curva operador- receptor para las concentraciones en plasma de MMP-9 para la predicción de parto prematuro.

En la (figura 17) representamos la curva ROC para la MMP-9 en secreción vaginal, obteniendo un área bajo la curva de 0.4678, con un error estándar de 0.0310 y un IC 95% (0.415 - 0.518), con un valor $p > 0.05$, no estadísticamente significativo; para la precisión diagnóstica se escogió como punto de corte 145.1pg/ml, con una sensibilidad del 55.65% y una especificidad del 45.06%, correctamente clasificado en un 48.54%, LR+ 1.012, LR-0.984.

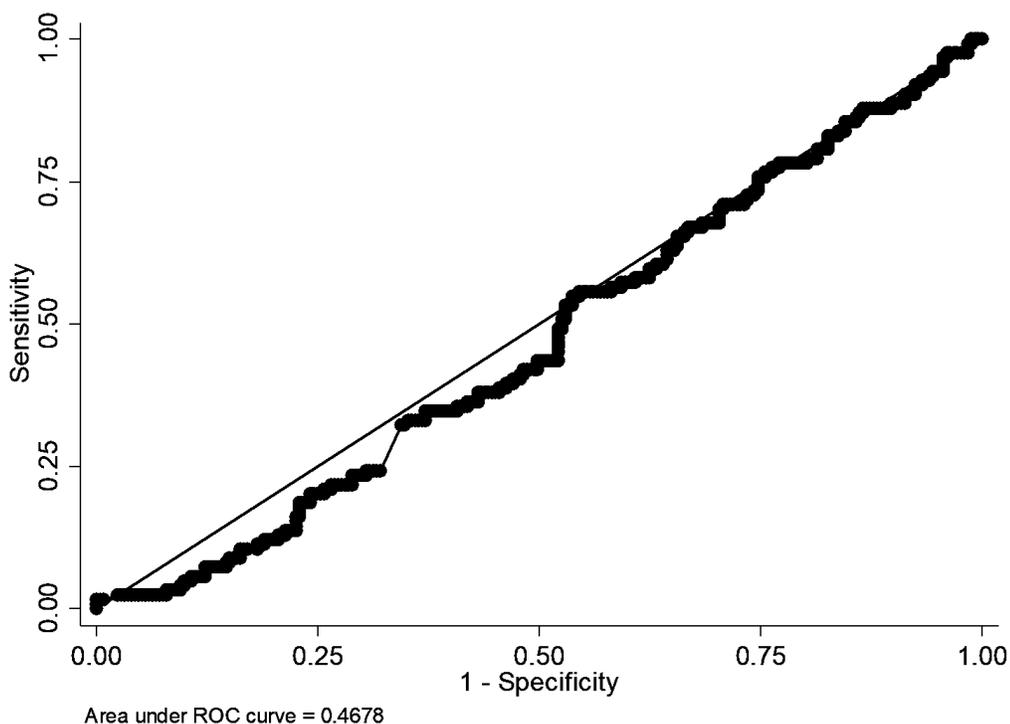


Figura 17: Curva operador- receptor para las concentraciones en secreción vaginal de MMP-9 para la predicción de parto prematuro.

5.1.2. Estadística analítica, de las MMPs, las características sociodemográficas y clínicas de parto prematuro en relación a parto a término

5.1.2.1. Cálculo de OR crudo

Para realizar la inferencia estadística, calculamos el OR crudo mediante regresión logística univariada como observamos en la (tabla 7), encontrando un valor estadísticamente significativo con incremento del riesgo de PP, para el hábito de fumar, el antecedente de PP anterior, la longitud cervical <2.5cm y en lo referente a las MMPs, los valores de MMP-2 en plasma, bajo 239.4 ng/ml incrementaron el riesgo de PP con un IC estadísticamente significativo, los valores de MMP-9 en plasma, sobre los dos puntos de corte 63.25 y 119.3 pg/ml incrementaron el riesgo de PP con un IC estadísticamente significativo; para las MMP-2 vaginal y MMP-9 vaginal no se encontró diferencia.

Tabla 7 - OR crudo de características sociodemográficas, clínicas y MMPs de parto prematuro en relación a parto a término.

	Caso n (%)	Control n (%)	OR^a crudo	IC (95%)
Edad de la madre				
<19	14(10.85)	21(8.14)	1.40	(0.68 - 2.87)
19 – 35	104(80.62)	219(84.88)	Ref	Ref
>35	11(8.53)	18(6.98)	1.28	(0.58 - 2.82)
Paridad				
1	48(37.21)	109(42.25)	0.92	(0.58 - 1.47)
2 – 3	56(43.41)	118(45.74)	Ref	Ref
4 o más	25(19.38)	31(12.02)	1.69	(0.91 - 3.14)
Hábito de fumar				
No	83(64.34)	204(79.07)	Ref	Ref
Si	46(35.66)	54(20.93)	2.09	(1.31 - 3.34)
Antecedente parto prematuro anterior				
No	41(31.78)	235(91.09)	Ref	Ref
1 parto	74(57.36)	17(6.59)	24.94	(13.38 - 46.50)
2 partos	14(10.85)	6(2.33)	13.37	(4.86 - 36.80)
Vaginosis Bacteriana				

No	108(84.38)	215(84.31)	Ref	Ref
Si	20(15.63)	40(15.69)	0.99	(0.55 - 1.78)
ITU				
No	112(87.50)	231(89.53)	Ref	Ref
Si	16(12.50)	27(10.47)	1.22	(0.63 - 2.36)
Longitud cervical				
>2.5cm	109(85.16)	246(95.35)	Ref	Ref
<2.5cm	19(14.84)	12(4.65)	3.57	(1.67 - 7.61)
MMP-2 plasma				
>239.4 ng/ml	57(44.19)	150(58.14)	Ref	Ref
<239.4 ng/ml	72(55.81)	108(41.86)	1.75	(1.14 - 2.68)
MMP-2 vaginal				
<3.22 ng/ml	62(48.06)	127(49.22)	Ref	Ref
>3.22 ng/ml	67(51.94)	131(50.78)	1.04	(0.68 - 1.59)
MMP-9 plasma				
<63.25 pg/ml	44(34.11)	162(62.79)	Ref	Ref
>63.25 pg/ml	85(65.89)	96(37.21)	3.26	(2.09 - 5.07)
<119.3 pg/ml	86(66.67)	254(98.45)	Ref	Ref
> 119.3 pg/ml	43(33.33)	4(1.55)	31.75	(11.07 - 91.03)
MMP-9 vaginal				
<145.1 pg/ml	60(46.51)	120(46.51)	Ref	Ref
>145.1 pg/ml	69(53.49)	138(53.49)	1.00	(0.65 - 1.52)

OR: razón de probabilidades; IC: intervalo de confianza; ^a: regresión logística.

5.1.2.2. Cálculo OR ajustado

En la (tabla 8) presentamos el cálculo del OR de las características sociodemográficas, clínicas y MMPs en relación a PP, ajustado para edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente de PP, VB, ITU y longitud cervical, encontrando una disminución estadísticamente significativa del riesgo de PP para las pacientes con 4 partos o más; el hábito de fumar y el antecedente de PP mantienen el incremento en el riesgo de PP, a diferencia de la tabla de OR bruto la ITU presenta un incremento en el riesgo y por el contrario la longitud cervical < de 2.5cm pierde la significancia estadística. En lo referente a las MMPs, la MMP-2 en plasma con sus valores menores de 239.4 ng/ml incrementan la probabilidad de PP, al igual que los valores de MMP-9 en

plasma mayores de 63.25pg/ml; los valores de MMP-2 en secreción vaginal mayores de 3.22ng/ml presentan un OR de 1.4, pero con un IC no significativo, los valores de MMP-9 en secreción vaginal presentan un OR de 0.65 igualmente no significativo.

Tabla 8 - OR ajustado de características sociodemográficas, clínicas y MMPs de parto prematuro en relación a parto a término.

	OR^b ajustado	IC (95%)	Valor p
Edad de la madre			
<19	2.34	(0.89-6.13)	0.2
19 – 35	Ref	Ref	
>35	1.58	(0.52-4.73)	0.9
Paridad			
1	1.06	(0.54-2.10)	0.08
2 – 3	Ref	Ref	
4 o más	0.31	(0.12-0.83)	0.01
Hábito de fumar			
No	Ref	Ref	
Si	2.67	(1.35-5.25)	0.004
Antecedente parto prematuro anterior			
No	Ref	Ref	
1 parto	31.76	(14.78-68.28)	<.0001
2 partos	12.22	(3.84-38.81)	0.1
Vaginosis Bacteriana			
No	Ref	Ref	
Si	0.68	(0.29-1.58)	0.3
ITU			
No	Ref	Ref	
Si	2.50	(1.06-5.90)	0.03
Longitud cervical			
>2.5cm	Ref	Ref	
<2.5cm	2.62	(0.91-7.57)	0.07
MMP-2 plasma			
>239.4 ng/ml	Ref	Ref	
<239.4 ng/ml	1.86	(1.01-3.42)	0.04
MMP-2 vaginal			
<3.22 ng/ml	Ref	Ref	

>3.22 ng/ml	1.42	(0.75-2.68)	0.2
MMP-9 plasma			
<63.25 pg/ml	Ref	Ref	
>63.25 pg/ml	3.03	(1.65-5.54)	0.0003
MMP-9 vaginal			
<145.1 pg/ml	Ref	Ref	
>145.1 pg/ml	0.65	(0.34-1.24)	0.1

OR: razón de probabilidades; IC: intervalo de confianza; ^b: regresión logística ajustada con: edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente PP, VB, ITU, longitud cervical.

En la (tabla 9) presentamos el cálculo del OR de las características sociodemográficas, clínicas y la MMP-9 en plasma en relación a PP, ajustado para edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente de PP, VB, ITU y longitud cervical, encontrando una disminución estadísticamente significativa del riesgo de PP para las pacientes con 4 partos o más; el hábito de fumar y el antecedente de PP mantienen el incremento en el riesgo de PP, la ITU y la longitud cervical < de 2.5cm tienen un incremento en el riesgo, pero sin significancia estadística. En lo referente a la MMP-9 en plasma presenta un OR de 2.71 con un IC estadísticamente significativo.

Tabla 9 - OR ajustado, de MMP-9 en plasma de parto prematuro en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.

	OR^b ajustado	IC (95%)	Valor p
Edad de la madre			
<19	2.3	(0.94 – 6.27)	0.21
19 – 35	Ref	Ref	
>35	1.55	(0.54 – 4.45)	0.99
Paridad			
1	0.99	(0.51 – 1.92)	0.15
2 – 3	Ref	Ref	
4 o más	0.36	(0.14 – 0.92)	0.02
Hábito de fumar			
No	Ref	Ref	
Si	2.46	(1.26 – 4.79)	0.007

Antecedente parto prematuro anterior			
No	Ref	Ref	
1 parto	31.81	(15.05 – 67.25)	<.0001
2 partos	12.55	(3.95 – 39.85)	0.16
Vaginosis Bacteriana			
No	Ref	Ref	
Si	0.66	(0.29 – 1.52)	0.33
ITU			
No	Ref	Ref	
Si	2.26	(0.96 – 5.31)	0.06
Longitud cervical			
>2.5cm	Ref	Ref	
<2.5cm	2.47	(0.88 – 6.91)	0.08
MMP-9 plasma			
<63.25 pg/ml	Ref	Ref	
>63.25 pg/ml	2.71	(1.52 – 4.83)	0.0007

^b: ajustado por edad materna; paridad; tabaquismo; antecedente PP; longitud cervical; ITU; VB.

En la (tabla 10) presentamos el cálculo del OR de las características sociodemográficas, clínicas y la MMP-9 en plasma con un valor de corte de 119.3 pg/ml el cual tiene mayor especificidad pero menos sensibilidad en comparación con el valor de corte de la tabla anterior, en relación a PP, y ajustado todo para edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente de PP, VB, ITU y longitud cervical, encontrando una disminución estadísticamente significativa del riesgo de PP para las pacientes con 4 partos o más; el hábito de fumar y el antecedente de PP mantienen el incremento en el riesgo de PP; la ITU y la longitud cervical < de 2.5cm tienen un incremento en el riesgo, pero con la diferencia que la ITU se presenta sin significancia estadística. En lo referente a la MMP-9 en plasma presenta un OR de 33.75, pero con un IC significativo pero amplio debido al pequeño número de casos.

Tabla 10 - OR ajustado, de MMP-9 en plasma (segundo valor de corte) de parto prematuro en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.

	OR^b ajustado	IC (95%)	Valor p
Edad de la madre			
<19	2.98	(1.06 – 8.39)	0.14
19 – 35	Ref	Ref	
>35	1.62	(0.50 – 5.22)	0.92
Paridad			
1	0.92	(0.45 – 1.91)	0.18
2 – 3	Ref	Ref	
4 o más	0.30	(0.11 – 0.82)	0.01
Hábito de fumar			
No	Ref	Ref	
Si	2.20	(1.09 – 4.49)	0.02
Antecedente parto prematuro anterior			
No	Ref	Ref	
1 parto	34.78	(15.56 – 77.77)	<.0001
2 partos	14.63	(4.46 – 47.92)	0.12
Vaginosis Bacteriana			
No	Ref	Ref	
Si	0.76	(0.31 – 1.89)	0.56
ITU			
No	Ref	Ref	
Si	2.17	(0.86 – 5.48)	0.10
Longitud cervical			
>2.5cm	Ref	Ref	
<2.5cm	3.026	(1.03 – 8.86)	0.04
MMP-9 plasma			
<119.3 pg/ml	Ref	Ref	
>119.3 pg/ml	33.75	(10.37 – 109.77)	<.0001

^b: ajustado por edad maternal; paridad; tabaquismo; antecedente PP; longitud cervical; ITU; VB.

En la (tabla 11) presentamos el cálculo del OR de las características sociodemográficas, clínicas y la MMP-9 en secreción vaginal en relación a PP, ajustado para edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente de PP, VB, ITU y longitud cervical, encontrando una disminución

estadísticamente significativa del riesgo de PP para las pacientes con 4 partos o más; el hábito de fumar y el antecedente de PP mantienen el incremento en el riesgo de PP, la ITU y la longitud cervical < de 2.5cm tienen un incremento en el riesgo, pero la longitud cervical sin significancia. En lo referente a la MMP-9 en secreción vaginal presenta un OR de 0.72 con un IC no estadísticamente significativo.

Tabla 11 - OR ajustado, de MMP-9 en secreción vaginal de parto prematuro en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.

	OR^b ajustado	IC (95%)	Valor p
Edad de la madre			
<19	2.49	(0.98 – 6.35)	0.23
19 – 35	Ref	Ref	
>35	1.73	(0.60 – 5.00)	0.86
Paridad			
1	1.01	(0.52 – 1.95)	0.16
2 – 3	Ref	Ref	
4 o más	0.38	(0.15 – 0.96)	0.03
Hábito de fumar			
No	Ref	Ref	
Si	2.25	(1.19 – 4.28)	0.01
Antecedente parto prematuro anterior			
No	Ref	Ref	
1 parto	35.0	(16.80 – 72.96)	<.0001
2 partos	14.29	(4.66 – 43.85)	0.11
Vaginosis Bacteriana			
No	Ref	Ref	
Si	0.76	(0.33 – 1.73)	0.52
ITU			
No	Ref	Ref	
Si	2.36	(1.05 – 5.34)	0.037
Longitud cervical			
>2.5cm	Ref	Ref	
<2.5cm	2.54	(0.90 – 7.10)	0.07
MMP-9 vaginal			
<145.1 pg/ml	Ref	Ref	
>145.1 pg/ml	0.72	(0.40 – 1.30)	0.28

^b: ajustado por edad materna; paridad; tabaquismo; antecedente PP; longitud cervical; ITU; VB.

En la (tabla 12) presentamos el cálculo del OR de las características sociodemográficas, clínicas y la MMP-2 en plasma en relación a PP, ajustado para edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente de PP, VB, ITU y longitud cervical, encontrando una disminución estadísticamente significativa del riesgo de PP para las pacientes con 4 partos o más; el hábito de fumar y el antecedente de PP mantienen el incremento en el riesgo de PP, la ITU y la longitud cervical < de 2.5cm tienen un incremento en el riesgo, con significancia estadística. En lo referente a la MMP-2 en plasma presenta un OR de 1.42 con un IC no estadísticamente significativo.

Tabla 12 - OR ajustado, de MMP-2 en plasma de parto prematuro en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.

	OR^b ajustado	IC (95%)	Valor p
Edad de la madre			
<19	2.23	(0.87 – 5.72)	0.33
19 – 35	Ref	Ref	
>35	1.77	(0.60 – 5.21)	0.76
Paridad			
1	1.15	(0.59 – 2.24)	0.09
2 – 3	Ref	Ref	
4 o más	0.40	(0.16 – 0.99)	0.02
Hábito de fumar			
No	Ref	Ref	
Si	2.20	(1.16 – 4.18)	0.01
Antecedente parto prematuro anterior			
No	Ref	Ref	
1 parto	33.01	(15.91 – 68.46)	<.0001
2 partos	14.61	4.75 – 44.94)	0.09
Vaginosis Bacteriana			
No	Ref	Ref	
Si	0.71	(0.32 – 1.59)	0.41
ITU			

No	Ref	Ref	
Si	2.32	(1.03 – 5.22)	0.04
Longitud cervical			
>2.5cm	Ref	Ref	
<2.5cm	2.32	(1.03 – 6.41)	0.10
MMP-2 plasma			
>239.4 ng/ml	Ref	Ref	
<239.4 ng/ml	1.42	(0.80 – 2.53)	0.22

^b: ajustado por edad materna; paridad; tabaquismo; antecedente PP; longitud cervical; ITU; VB.

En la (tabla 13) presentamos el cálculo del OR de las características sociodemográficas, clínicas y la MMP-2 en secreción vaginal en relación a PP, ajustados para edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente de PP, VB, ITU y longitud cervical, encontrando una disminución del riesgo de PP para las pacientes con 4 partos o más, con un valor de p estadísticamente significativo; el hábito de fumar y el antecedente de PP mantienen el incremento en el riesgo de PP, la ITU y la longitud cervical < de 2.5cm tienen un incremento en el riesgo, pero con significancia en el caso de ITU. En lo referente a la MMP-2 en secreción vaginal presenta un OR de 1.24 con un IC no significativo.

Tabla 13 - OR ajustado, de MMP-2 en secreción vaginal de parto prematuro en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.

	OR^b ajustado	IC (95%)	Valor p
Edad de la madre			
<19	2.39	(0.93 – 6.09)	0.29
19 – 35	Ref	Ref	
>35	1.88	(0.64 – 5.50)	0.73
Paridad			
1	1.09	(0.56 – 2.09)	0.13
2 – 3	Ref	Ref	
4 o más	0.41	(0.17 – 1.02)	0.03
Hábito de fumar			
No	Ref	Ref	

Si	2.27	(1.19 – 4.32)	0.01
Antecedente parto prematuro anterior			
No	Ref	Ref	
1 parto	34.55	(16.59 – 71.95)	<.0001
2 partos	14.55	(4.73 – 44.69)	0.10
Vaginosis Bacteriana			
No	Ref	Ref	
Si	0.69	(0.31 – 1.56)	0.38
ITU			
No	Ref	Ref	
Si	2.37	(1.05 – 5.37)	0.03
Longitud cervical			
>2.5cm	Ref	Ref	
<2.5cm	2.30	(0.84 – 6.27)	0.10
MMP-2 vaginal			
<3.22 ng/ml	Ref	Ref	
>3.22 ng/ml	1.24	(0.70 – 2.19)	0.45

^b: ajustado por edad materna; paridad; tabaquismo; antecedente PP; longitud cervical; ITU; VB.

5.1.2.3. Árbol de inferencia condicional

En la (figura 18), elaboramos un árbol de inferencia condicional que incluye a las MMPs y la longitud cervical teniendo como resultado la presencia de PP, de acuerdo a esto encontramos que la MMP-9 en plasma con un valor de corte de 118.79 pg/ml, muy similar al obtenido por la curva ROC, nos permite con un valor de p estadísticamente significativa, determinar 2 grupos uno con valor mayor a 118.79pg/ml, en estos pacientes se analiza la longitud cervical, y se forman dos grupos, uno con valor de corte menor o igual a 3.9 cm, en el cual se incluyen el 100% de pacientes con PP; y el otro grupo con una longitud cervical mayor de 3.9 cm, que comprende un 70% de pacientes que presentan PP.

En el grupo con MMP-9 en plasma menor o igual a 118.79pg/ml, la variable que le sigue en significancia estadística condicional es MMP-2 en plasma, formando dos grupos con el valor de corte de 139.9ng/ml, en el grupo con valor menor o igual al punto de corte se encuentran, un 60% de PP; en el grupo con valor de corte mayor a 139.9ng/ml, se tiene que tomar en cuenta un nuevo punto de corte de MMP-9 en plasma 60.92pg/ml, formando dos grupos uno con el valor mayor al

punto de corte, encontrando un 31% de los casos, y con valor igual o menor solo encontramos un 9% de casos.

Con el análisis de MMP-9 en plasma y longitud cervical, pudimos determinar el 37.2% de los pacientes que concluyeron en PP; con el análisis de MMP-9 en plasma y MMP-2 en plasma, pudimos determinar el 28.8 % de los pacientes que concluyeron en PP. Por tanto, analizando longitud cervical, MMP-2 y 9 pudimos encontrar el 66% de los PP.

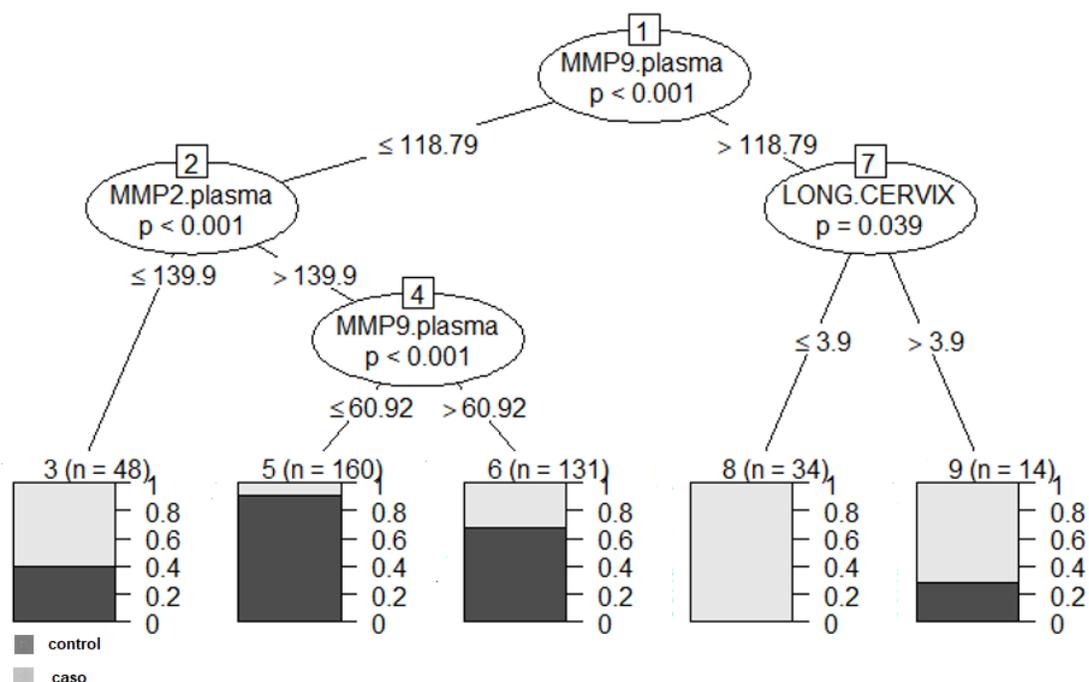


Figura 18: Árbol de inferencia condicional incluyendo: MMPs y longitud cervical, en relación a parto prematuro.

En la (figura 19), elaboramos un árbol de inferencia condicional que incluye a las MMPs, la longitud cervical, la edad, la paridad, el hábito de fumar, VB, ITU excluyendo el antecedente de PP, teniendo como resultado la presencia de PP, de acuerdo a esto encontramos que la MMP-9 en plasma con un valor de corte de 118.79 pg/ml, nos permite, determinar 2 grupos uno con valor mayor a 118.79pg/ml, en el cual encontramos un 90% de PP, de un total de 47 pacientes.

En el grupo con MMP-9 en plasma menor o igual a 118.79pg/ml, la variable que le sigue en significancia estadística condicional es la longitud cervical con un valor de corte de 2.4 cm, en el grupo con valor menor o igual al punto de corte se precisa, el análisis de MMP-2 en plasma con

un valor de corte de 202.81ng/ml, en el grupo con valor de corte menor o igual se encuentra un 100% de PP que corresponde a 10 pacientes, y mayor a 202.81ng/ml se encuentran 22% de PP que corresponde a 3 pacientes; aquellas pacientes con un cérvix mayor de 2.4cm y con MMP-9 menor o igual a 118.79pg/ml 22% fueron PP, que corresponde a 70 pacientes.

Por tanto con el análisis de MMP-9 en plasma sobre el valor de corte, puedo determinar el 36.4% de los pacientes que terminan en PP; y si sumo aquellas que presentan MMP-9 bajo el valor de corte pero determino longitud cervical menor de 2.4 cm y MMP-2 en plasma menor o igual a 202.81ng/ml sumo 10 pacientes que corresponden a un 7.75%, con un porcentaje de detección del 44.1%, es importante determinar que aquellas pacientes con un cuello de útero mayor de 2.4 cm correspondió al 78% de los controles.

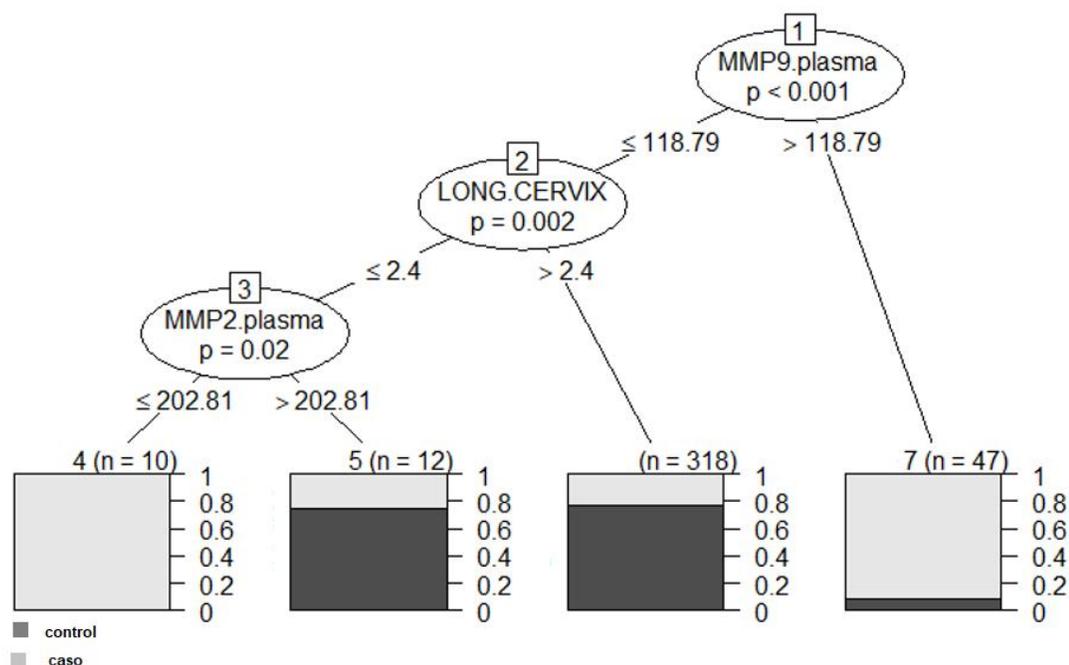


Figura 19: Árbol de inferencia condicional incluyendo: MMPs, longitud cervical, edad, paridad, hábito de fumar, VB, ITU; en relación a parto prematuro.

En la (figura 20), elaboramos un árbol de inferencia condicional que incluye a las MMPs ,la longitud cervical, hábito de fumar, edad y paridad de la madre, excluyendo: VB, ITU y

antecedente de PP, teniendo como resultado la presencia de PP , de acuerdo a esto encontramos que la MMP-9 en plasma con un valor de corte de 118.79 pg/ml, nos permite determinar 2 grupos uno con valor mayor a 118.79pg/ml, en el cual se incluyen 90% de casos, que corresponde a 42 pacientes.

En el grupo con MMP-9 en plasma menor o igual a 118.79pg/ml, la variable que le sigue en significancia estadística condicional es MMP-2 en plasma, formando dos grupos con el valor de corte de 139.9 ng/ml, en el grupo con valor menor o igual al punto de corte se encuentran, un 60% de PP que corresponde a 29 pacientes; en el grupo con valor de corte mayor a 139.9ng/ml, se tiene que tomar en cuenta un nuevo punto de corte de MMP-9 en plasma 60.92pg/ml, formando dos grupos uno con el valor menor al punto de corte, encontramos un 5% de casos, que corresponde a 8 pacientes, y con valor mayor al punto de corte se debe tomar en cuenta otra variable, el hábito de fumar cuando está presente, encontramos 55% de casos que corresponde a 18 pacientes; si no está presente encontramos 22 casos.

Con el análisis de MMP-9 y MMP-2 plasma podemos, determinar un 55% de los pacientes que terminan en PP.

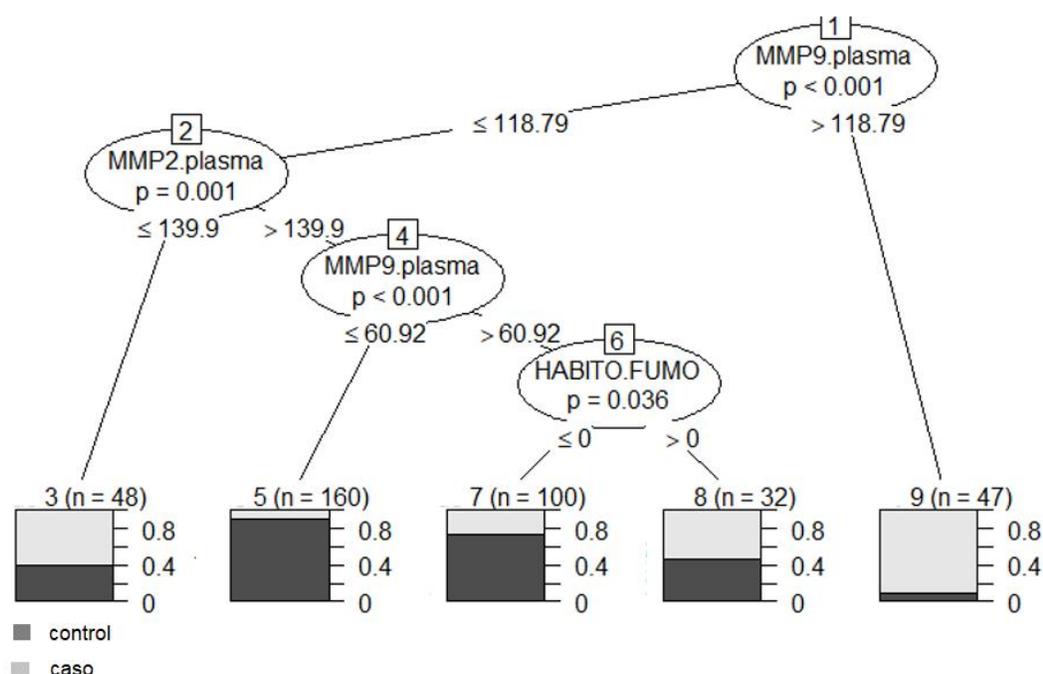


Figura 20: Árbol de inferencia condicional incluyendo: MMPs, longitud cervical, edad, paridad, hábito de fumar; en relación a parto prematuro.

En la (figura 21), elaboramos un árbol de inferencia condicional que incluye a las MMPs, la longitud cervical, edad de la madre, paridad, antecedente de PP, VB e ITU teniendo como resultado la presencia de PP, de acuerdo a esto encontramos que el antecedente de PP es la variable condicional con mayor significancia, la cual nos permite formar dos grupos con y sin antecedente. En el primer grupo sin antecedente, la MMP-9 en plasma con un valor de corte de 118.79 pg/ml, determinamos 2 grupos uno con valor mayor a 118.79pg/ml, grupo en el cual se encuentra un 81% de casos que corresponde a 14 pacientes. En el grupo con MMP-9 en plasma menor o igual a 118.79pg/ml, encontramos 10% de casos que corresponde a 26 pacientes.

En el grupo con antecedente de PP, la MMP-9 con un valor de corte de 81.86 nos permite determinar que en grupo con un valor igual o inferior al punto de corte se encuentra un 61% de casos que representa 35 pacientes, y con el valor superior al punto de corte se encuentra 98% de casos que corresponde a 52 pacientes.

Por tanto, tomando en cuenta el antecedente de PP presente, podemos encontrar 67% de pacientes que terminaran en PP, y si sumamos los pacientes con MMP-9 en plasma mayor a 118.79

pg/ml de aquellos pacientes sin antecedente lograríamos encontrar un total de 78% de pacientes que pueden desencadenar un PP.

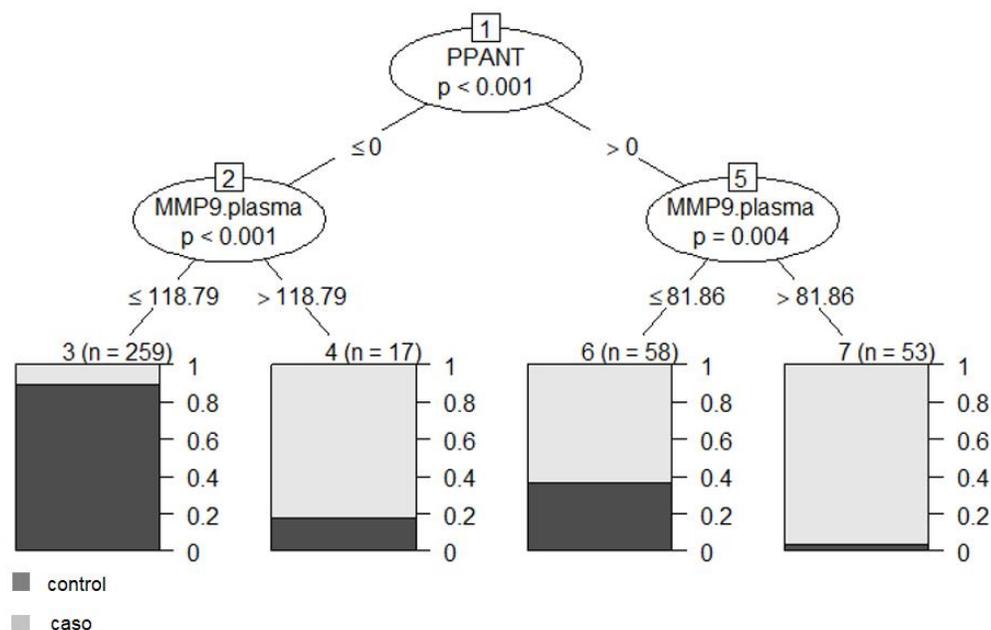


Figura 21: Árbol de inferencia condicional incluyendo: MMPs, longitud cervical, edad, paridad, hábito de fumar, VB, ITU, antecedente de PP; en relación a parto prematuro.

5.1.2.4. Valores de test diagnóstico de las MMPs 2 y 9 en plasma

De las dos MMPs con significancia estadística, realizamos el análisis de los valores de test diagnóstico, determinando que la MMP-9 en plasma con un valor de corte de 119.3pg/ml; tiene sensibilidad baja, con una especificidad sobre 95% y valores predictivos sobre el 70%, con valores de LR+ sobre 10, que teóricamente lo convierten en un, altamente relevante test diagnóstico (tabla 14).

Tabla 14 - Valores de test diagnóstico MMP-9 en plasma, valor de corte 119.3pg/ml, de parto prematuro en relación a parto a término.

MMP-9 plasma 2	Valor	IC (95%)
Sensibilidad	0.33	(0.25 - 0.42)
Especificidad	0.98	(0.95 - 0.99)
Valor predictivo positivo	0.91	(0.84 - 0.97)
Valor predictivo negativo	0.74	(0.70 - 0.78)
LR +	21.50	(7.88 - 58.59)
LR -	0.67	(0.59 - 0.76)

La MMP-9 en plasma con un valor de corte de 63.25 pg/ml; tiene sensibilidad y especificidad sobre 60%, valor predictivo negativo sobre el 75%, y con LR's que lo convierte en mal test diagnóstico (tabla 15).

Tabla 15 - Valores de test diagnóstico MMP-9 en plasma, valor de corte 63.25pg/ml, de parto prematuro en relación a parto a término.

MMP-9 plasma	valor	IC (95%)
Sensibilidad	0.65	(0.56 - 0.73)
Especificidad	0.62	(0.56 - 0.68)
Valor predictivo positivo	0.46	(0.40 - 0.53)
Valor predictivo negativo	0.78	(0.74 - 0.83)
LR +	1.77	(1.44 - 2.16)
LR -	0.54	(0.41 - 0.70)

La MMP-2 en plasma con un valor de corte de 239.4ng/ml; tiene sensibilidad y especificidad sobre 50%, valor predictivo negativo sobre el 70%, y con LR's que lo convierte en mal test diagnóstico (tabla 16).

Tabla 16 - Valores de test diagnóstico MMP-2 en plasma valor de corte 239.4 ng/ml, de parto prematuro en relación a parto a término.

MMP-2 plasma	Valor	IC (95%)
Sensibilidad	0.55	(0.46 - 0.64)
Especificidad	0.58	(0.51 - 0.64)
Valor predictivo positivo	0.40	(0.33 - 0.46)
Valor predictivo negativo	0.72	(0.67 - 0.77)
LR +	1.33	(1.08 - 1.64)
LR -	0.76	(0.61 - 0.94)

5.2. Descripción del análisis de los resultados de la segunda sección

En esta segunda parte, las mismas variables independientes y de confusión las analizaremos en relación a PP espontáneo en comparación con PA.

El total de nuestra población lo constituyo, 1370 pacientes de las cuales 70 tuvieron un parto antes de las 37 semanas, considerado PP espontáneo, que corresponde al 5.1%.

5.2.1. Análisis parto prematuro espontáneo en relación a parto a término

En este análisis del estudio caso control, los 70 PP espontáneos fueron comparados con 258 PA, para determinar la relación con MMPs 2 y 9, y otras variables socio demográficas, clínicas y laboratoriales, mediante estadística descriptiva e inferencial.

5.2.1.1. Estadística descriptiva

En la (tabla 17), podemos determinar que al comprar las características de los dos grupos encontramos diferencia estadísticamente significativa en relación al hábito de fumar, longitud cervical menor de 2.5cm y antecedente de PP, presentes en mayor proporción en el grupo de PP espontáneo, igual al análisis en la primera parte al comparar PP en general con PA.

Tabla 17 - Comparación de las características maternas gestacionales, ultrasonográficas y laboratoriales, entre parto prematuro espontáneo y parto a término.

Características	Parto Prematuro espontáneo		P
	Si (n = 70)	No (n = 258)	
Edad Materna (años), n (%)			
<19	8 (11.43)	21 (8.14)	0.60 ^a
19-35	56 (80)	219 (84.88)	
>35	6 (8.57)	18 (6.98)	
Paridad n (%)			
1	26 (37.14)	109 (42.25)	0.483 ^a
2 - 3	32 (45.71)	118 (45.74)	
≥ 4	12 (17.14)	31 (12.02)	

Tabaquismo n (%)	25 (35.71)	54 (20.93)	0.010 ^a
Vaginosis Bacteriana n (%)	14 (20)	40 (15.7)	0.39 ^a
Antecedente PP n (%)	52 (62.29)	23 (8.9)	<0.001 ^a
Urocultivo positivo n (%)	10 (14.29)	27(10.4)	0.37 ^a
Cuello uterino <2.5 cm	14 (20.29)	12 (4.6)	0.001 ^a
Edad Gestacional (días), media (DE)	239.5 (21.89)	276.5 (8.5)	

^a: Chi square test; DE: desviación estandar.

En la (tabla 18), podemos determinar que las medias y medianas de la MMP-9 en plasma de los casos es superior al control, en cuanto a la MMP-2 en plasma al contrario los valores de media y mediana son inferiores en los casos; la media y mediana de los valores de la MMP-9 en secreción vaginal es superior en los casos, en la primera parte al comparar PP general se encontró lo contrario y por último la media de MMP-2 vaginal es inferior en los casos, en lo referente al valor de la mediana prácticamente no hay diferencia.

Tabla 18: Comparación medidas tendencia central y dispersión de las MMPs, de parto prematuro espontáneo y parto a término.

	G	MA	M	DE	M	QI	QS	VM	VMx
MMP-2 plasma	Caso	70	211.51	107.74	197.72	129.61	271.05	29.91	456.70
MMP-2 vaginal		69	6.03	7.27	3.95	1.21	7.85	0.03	43.80
MMP-9 plasma		70	93.51	50.38	81.99	51.62	130.11	14.35	208.48
MMP-9 vaginal		69	204.95	161.42	194.11	87.44	296.72	4.11	823.93
MMP-2 plasma	Control	258	258.21	88.65	253.97	192.61	318.00	8.78	495.83
MMP-2 vaginal		256	34.51	77.60	3.32	0.97	8.69	0.00	366.65
MMP-9 plasma		258	57.99	28.12	53.28	37.21	74.24	0.86	151.00
MMP-9 vaginal		253	190.32	160.60	173.97	39.17	310.53	1.24	679.07

G: grupo; MA: muestras analizadas; m: media; M: mediana; DE: desviación estándar; QI: cuartil inferior; QS: cuartil superior; VM: valor mínimo; VMx: valor máximo.

De acuerdo, a la distribución de normalidad o no de las variables (tabla 19), escogimos el test t de student para comparar las medias de MMP-2 en plasma entre el grupo caso y control encontrando un valor p estadísticamente significativo; para la MMP-2 en secreción vaginal, la MMP-9 en plasma y la MMP-9 en secreción vaginal, utilizamos sus medianas y aplicamos el test Mann-Whitney, encontrando un valor p estadísticamente significativo solo en para MMP-9 en plasma, datos similares al análisis de PP general.

Tabla 19 - Concentración de MMPs en plasma y secreción vaginal, en parto prematuro espontáneo y parto a término.

Metaloproteinasa	Parto Prematuro (n = 70)	Parto A término (n = 258)	p
MMP2 plasma, media (ES)	211.5 (12.8)	258.2 (5.5)	0.0002 ^a
MMP2, vaginal, mediana (IIQ)	3.9 (6.64)	3.31 (7.7)	0.734 ^b
MMP9 plasma, mediana (IIQ)	81.9 (78.48)	53.2 (37.0)	<0.001 ^b
MMP9, vaginal, mediana (IIQ)	194.1 (209.28)	173.9 (271.3)	0.373 ^b

^a: Student t test; ^b: Mann-Whitney test; IIQ: intervalo Inter cuartil; ES: error estándar.

Estas diferencias podemos observarlas de mejor manera en los box-plot que tenemos a continuación, algo que llama la atención es la gran dispersión de los datos en la variable MMP-2 vaginal tanto en casos y controles.

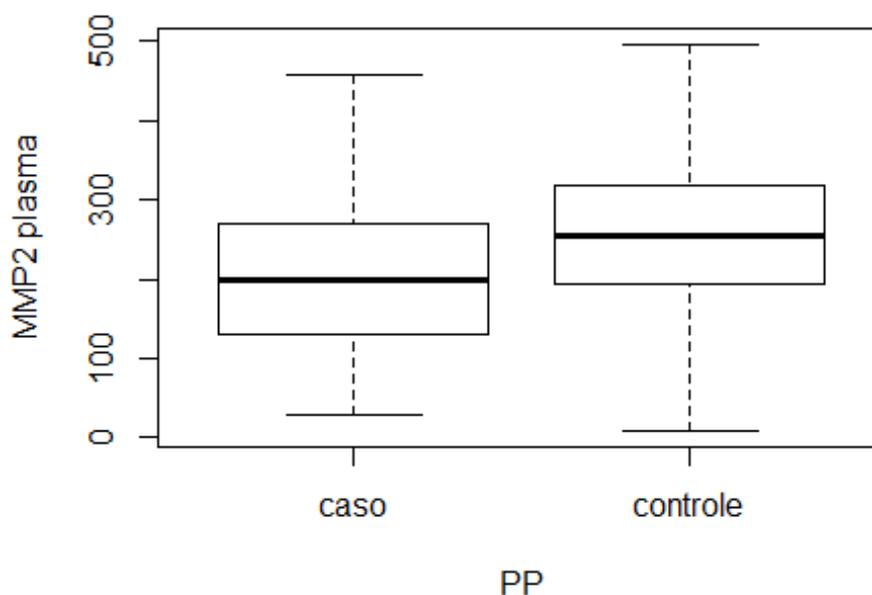


Figura 22: Box-plot MMP-2 en plasma, en parto prematuro espontáneo y parto a término

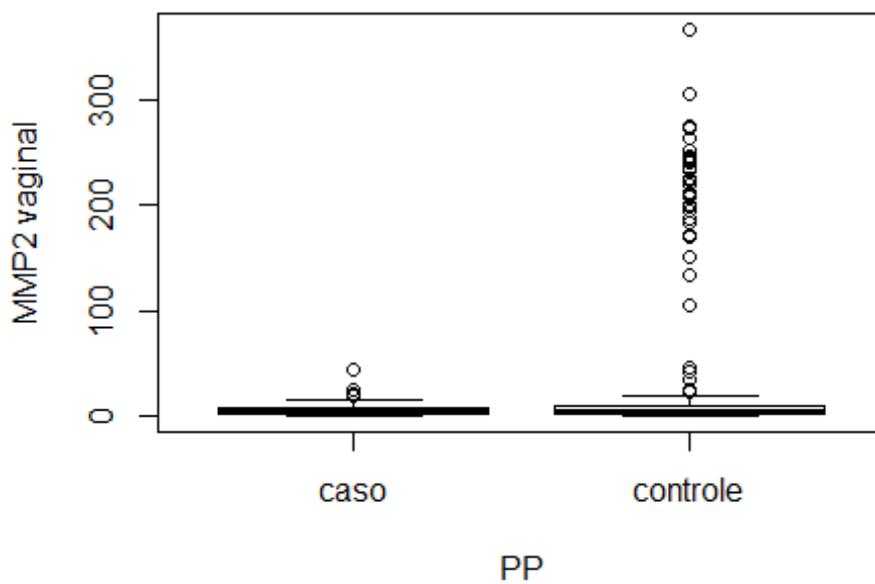


Figura 23: Box-plot MMP-2 en secreción vaginal, en parto prematuro espontáneo y parto a término.

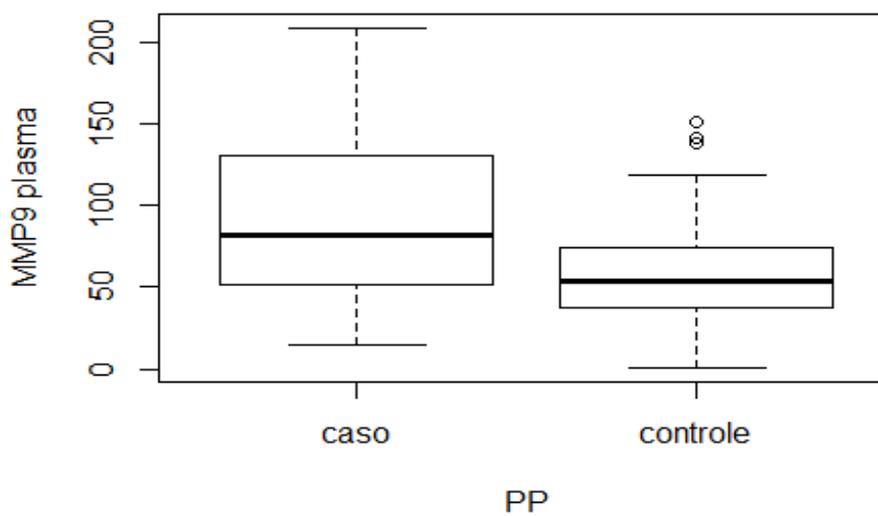


Figura 24: Box-plot MMP-9 en plasma, en parto prematuro espontáneo y parto a término.

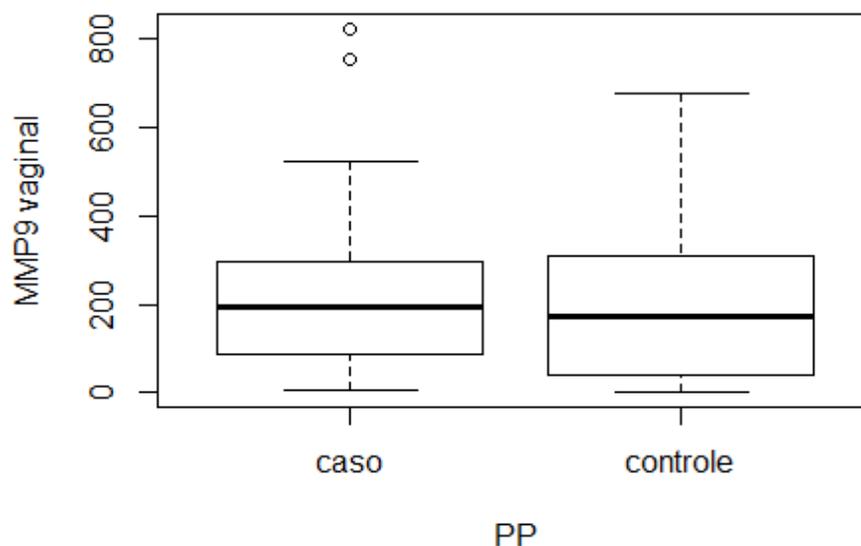


Figura 25: Box-plot MMP-9 en secreción vaginal, en parto prematuro espontáneo y parto a término.

5.2.2. Estadística analítica, de las MMPs, las características sociodemográficas y clínicas entre parto prematuro espontáneo y parto a término

5.2.2.1. Cálculo de OR crudo

Para realizar la inferencia estadística, calculamos el OR crudo mediante regresión logística como observamos en la (tabla 20), encontrando un valor estadísticamente significativo con incremento del riesgo de PP, para el hábito de fumar, el antecedente de PP anterior, la longitud cervical <2.5cm y en lo referente a las MMPs, los valores de MMP-2 en plasma, bajo 239.4 ng/ml incrementaron el riesgo de PP con un IC estadísticamente significativo, los valores de MMP-9 en plasma, sobre los dos puntos de corte 63.25 y 119.3 pg/ml incrementaron el riesgo de PP con un IC estadísticamente significativo; para las MMP-2 vaginal y MMP-9 vaginal no se encontró diferencia, es importante mencionar que con el valor de corte de MMP-9 de 119.3 pg/ml, se

encontró un OR muy elevado y un amplio IC, debido a que se encontró cuatro pacientes en el grupo control.

Tabla 20 - OR crudo de características sociodemográficas, clínicas y MMPs, de parto prematuro espontáneo en relación a parto a término.

	Caso n (%)	Control n (%)	OR^a crudo	IC (95%)
Edad de la madre				
<19	8(11.43)	21(8.14)	1.49	(0.62 – 3.54)
19 – 35	56(80)	219(84.88)	Ref	Ref
>35	6(8.57)	18(6.98)	1.30	(0.49 – 3.43)
Paridad				
1	26(37.14)	109(42.25)	0.88	(0.49 – 1.57)
2 – 3	32(45.71)	118(45.74)	Ref	Ref
4 o más	12(17.14)	31(12.02)	1.42	(0.66 – 3.09)
Hábito de fumar				
No	45(64.29)	204(79.07)	Ref	Ref
Si	25(35.71)	54(20.93)	2.09	(1.18 – 3.72)
Antecedente parto prematuro anterior				
No	18(25.71)	235(91.09)	Ref	Ref
1 parto	43(61.43)	17(6.59)	33.02	(15.78 – 69.09)
2 partos	9(12.86)	6(2.33)	19.58	(6.27 – 61.15)
Vaginosis Bacteriana				
No	56(80)	215(84.31)	Ref	Ref
Si	14(20)	40(15.69)	1.34	(0.68 – 2.64)
ITU				
No	60(85.71)	231(89.53)	Ref	Ref
Si	10(14.29)	27(10.47)	1.42	(0.65 – 3.10)
Longitud cervical				
>2.5cm	55(79.71)	246(95.35)	Ref	Ref
<2.5cm	14(20.29)	12(4.65)	5.21	(2.28 – 11.90)
MMP-2 plasma				
>239.4 ng/ml	25(35.71)	150(58.14)	Ref	Ref
<239.4 ng/ml	45(64.29)	108(41.86)	2.50	(1.44 – 4.32)
MMP-2 vaginal				
<3.22 ng/ml	31(44.29)	127(49.22)	Ref	Ref

>3.22 ng/ml	39(55.71)	131(50.78)	1.22	(0.71 – 2.07)
MMP-9 plasma				
<63.25 pg/ml	26(37.14)	162(62.79)	Ref	Ref
>63.25 pg/ml	44(62.86)	96(37.21)	2.85	(1.65 – 4.93)
MMP-9 vaginal				
<145.1 pg/ml	25(35.71)	120(46.51)	Ref	Ref
>145.1 pg/ml	45(64.29)	138(53.49)	1.56	(0.90 – 2.70)

OR: razón de probabilidades; IC: intervalo de confianza; ^a: regresión logística.

5.2.2.2. Cálculo OR ajustado

En la (tabla 21) presentamos el cálculo del OR, de las características sociodemográficas, clínicas y MMPs en relación a PP espontáneo, ajustado para edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente de PP, VB, ITU y longitud cervical, encontrando una disminución estadísticamente significativa del riesgo de PP para las pacientes con 4 partos o más; el hábito de fumar y el antecedente de PP mantienen el incremento en el riesgo de PP, a diferencia de la tabla de OR bruto la ITU presenta un incremento en el riesgo y la longitud cervical < de 2.5cm de igual manera, esta última variable, se diferencia del PP en general en el cual no tiene significancia. En lo referente a las MMPs, la MMP-2 en plasma con sus valores menores de 239.4 ng/ml incrementan la probabilidad de PP, al igual que los valores de MMP-9 en plasma mayores de 63.25pg/ml; los valores de MMP-2 en secreción vaginal mayores de 3.22ng/ml presentan un OR de 1.88, pero con un IC no significativo, los valores de MMP-9 en secreción vaginal presentan un OR de 1.00 igualmente no significativo.

Tabla 21 - OR ajustado características sociodemográficas, clínicas y MMPs de parto prematuro espontáneo en relación a parto a término.

	OR ^b ajustado	IC (95%)	Valor p
Edad de la madre			
<19	1.92	(0.52 – 7.06)	0.66
19 – 35	Ref	Ref	

>35	1.91	(0.38 – 9.50)	0.70
Paridad			
1	1.28	(0.50 – 3.29)	0.03
2 – 3	Ref	Ref	
4 o más	0.21	(0.062 – 0.71)	0.005
Hábito de fumar			
No	Ref	Ref	
Si	3.56	(1.41 – 9.00)	0.007
Antecedente parto prematuro anterior			
No	Ref	Ref	
1 parto	64.68	(22.81 – 183.37)	<0.0001
2 partos	22.3	(5.53 – 89.89)	0.12
Vaginosis Bacteriana			
No	Ref	Ref	
Si	1.01	(0.40 – 3.02)	0.85
ITU			
No	Ref	Ref	
Si	6.01	(1.9 – 18.86)	0.002
Longitud cervical			
>2.5cm	Ref	Ref	
<2.5cm	4.22	(1.17 – 15.15)	0.02
MMP-2 plasma			
>239.4 ng/ml	Ref	Ref	
<239.4 ng/ml	3.84	(1.62 – 9.11)	0.002
MMP-2 vaginal			
<3.22 ng/ml	Ref	Ref	
>3.22 ng/ml	1.88	(0.80 – 4.39)	0.14
MMP-9 plasma			
<63.25 pg/ml	Ref	Ref	
>63.25 pg/ml	3.17	(1.38 – 7.25)	0.0063
MMP-9 vaginal			
<145.1 pg/ml	Ref	Ref	
>145.1 pg/ml	1.00	(0.43 – 2.32)	0.99

OR: razón de probabilidades; IC: intervalo de confianza; ^b: regresión logística ajustada con: edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente PP, VB, ITU, longitud cervical.

En la (tabla 22) presentamos el cálculo del OR de las características sociodemográficas, clínicas y la MMP-9 en plasma en relación a PP espontáneo, ajustado para edad de la madre,

paridad, hábito de fumar, antecedente de PP, VB, ITU y longitud cervical, encontrando una disminución estadísticamente significativa del riesgo de PP para las pacientes con 4 partos o más; el hábito de fumar y el antecedente de PP mantienen el incremento en el riesgo de PP, la ITU y la longitud cervical < de 2.5cm tienen un incremento en el riesgo, con significancia estadística a diferencia del PP en general en el cual no existe significancia. En lo referente a la MMP-9 en plasma presenta un OR de 2.32 con un IC estadísticamente significativo.

Tabla 22 - OR ajustado, de MMP-9 en plasma de parto prematuro espontáneo en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.

	OR^b ajustado	IC (95%)	Valor p
Edad de la madre			
<19	2.52	(0.72 – 8.80)	0.37
19 – 35	Ref	Ref	
>35	1.78	(0.42 – 7.44)	0.87
Paridad			
1	0.89	(0.36 – 2.18)	0.18
2 – 3	Ref	Ref	
4 o más	0.23	(0.075 – 0.73)	0.012
Hábito de fumar			
No	Ref	Ref	
Si	3.09	(1.29 – 7.39)	0.011
Antecedente parto prematuro anterior			
No	Ref	Ref	
1 parto	56.23	(21.55 – 146.72)	<.0001
2 partos	20.78	(5.36 – 80.46)	0.11
Vaginosis Bacteriana			
No	Ref	Ref	
Si	1.072	(0.39 – 2.90)	0.89
ITU			
No	Ref	Ref	
Si	3.96	(1.32 – 11.90)	0.013
Longitud cervical			
>2.5cm	Ref	Ref	

<2.5cm	4.49	(1.33 – 15.15)	0.015
MMP-9 plasma			
<63.25 pg/ml	Ref	Ref	
>63.25 pg/ml	2.32	(1.08 – 4.96)	0.030

^b: ajustado por edad materna; paridad; tabaquismo; antecedente PP; longitud cervical; ITU; VB

En la (tabla 23) presentamos el cálculo del OR de las características sociodemográficas, clínicas y la MMP-9 en plasma con un valor de corte de 119.3 pg/ml el cual tiene mayor especificidad pero menos sensibilidad en comparación con el valor de corte de la tabla anterior, en relación a PP espontáneo, y ajustado todo para edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente de PP, VB, ITU y longitud cervical, encontrando una disminución estadísticamente significativa del riesgo de PP para las pacientes con 4 partos o más; el hábito de fumar y el antecedente de PP mantienen el incremento en el riesgo de PP; la ITU y la longitud cervical < de 2.5cm tienen un incremento en el riesgo estadísticamente significativo, con la diferencia que ITU no tiene significancia estadística en el análisis de PP en general. En lo referente a la MMP-9 en plasma presenta un OR de 50.55 estadísticamente significativo, pero con un amplio IC debido al pequeño número de casos.

Tabla 23 - OR ajustado, de MMP-9 en plasma (segundo valor de corte) de parto prematuro espontáneo en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.

	OR ^b ajustado	IC (95%)	Valor p
Edad de la madre			
<19	4.06	(1.00 – 16.45)	0.20
19 – 35	Ref	Ref	
>35	2.34	(0.52 – 10.47)	0.85
Paridad			
1	0.82	(0.30 – 2.25)	0.23
2 – 3	Ref	Ref	
4 o más	0.19	(0.057 – 0.66)	0.012
Hábito de fumar			

No	Ref	Ref	
Si	2.81	(1.08 – 7.31)	0.033
Antecedente parto prematuro anterior			
No	Ref	Ref	
1 parto	70.62	(23.11 – 215.72)	<.0001
2 partos	28.92	(6.86 – 121.87)	0.069
Vaginosis Bacteriana			
No	Ref	Ref	
Si	1.13	(0.35 – 3.64)	0.82
ITU			
No	Ref	Ref	
Si	4.58	(1.33 – 15.83)	0.015
Longitud cervical			
>2.5cm	Ref	Ref	
<2.5cm	7.29	(2.00 – 26.51)	0.002
MMP-9 plasma			
<119.3 pg/ml	Ref	Ref	
>119.3 pg/ml	50.55	(12.01 – 212.60)	<.0001

^b: ajustado por edad materna; paridad; tabaquismo; antecedente PP; longitud cervical; ITU; VB.

En la (tabla 24) presentamos el cálculo del OR de las características sociodemográficas, clínicas y la MMP-9 en secreción vaginal en relación a PP espontáneo, ajustado para edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente de PP, VB, ITU y longitud cervical, encontrando una disminución estadísticamente significativa del riesgo de PP para las pacientes con 4 partos o más; el hábito de fumar y el antecedente de PP mantienen el incremento en el riesgo de PP, la ITU y la longitud cervical < de 2.5cm tienen un incremento en el riesgo estadísticamente significativo, con la diferencia que la longitud cervical no tiene significancia estadística en el análisis de PP en general. En lo referente a los valores de MMP-9 en secreción vaginal, presentan un incremento en el riesgo OR de 1.19 que, pese a no ser significativo, es diferente al PP en general en el cual el OR es de 0.72.

Tabla 24 - OR ajustado, de MMP-9 en secreción vaginal de parto prematuro espontáneo en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.

	OR^b ajustado	IC (95%)	Valor p
Edad de la madre			
<19	2.38	(0.67 – 8.37)	0.45
19 – 35	Ref	Ref	
>35	1.97	(0.47 – 8.23)	0.75
Paridad			
1	1.064	(0.43 – 2.58)	0.13
2 – 3	Ref	Ref	
4 o más	0.28	(0.09 – 0.89)	0.02
Hábito de fumar			
No	Ref	Ref	
Si	2.82	(1.20 – 6.64)	0.01
Antecedente parto prematuro anterior			
No	Ref	Ref	
1 parto	59.72	(23.27 – 153.24)	<.0001
2 partos	22.68	(5.99 – 85.82)	0.09
Vaginosis Bacteriana			
No	Ref	Ref	
Si	1.12	(0.42 – 3.00)	0.81
ITU			
No	Ref	Ref	
Si	3.97	(1.38 – 11.43)	0.010
Longitud cervical			
>2.5cm	Ref	Ref	
<2.5cm	3.94	(1.18 – 13.16)	0.025
MMP-9 vaginal			
<145.1 pg/ml	Ref	Ref	
>145.1 pg/ml	1.19	(0.55 – 2.57)	0.65

^b: ajustado por edad maternal; paridad; tabaquismo; antecedente PP; longitud cervical; ITU; VB.

En la (tabla 25) presentamos el cálculo del OR de las características sociodemográficas, clínicas y la MMP-2 en plasma en relación a PP espontáneo, ajustado para edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente de PP, VB, ITU y longitud cervical, encontrando una

disminución estadísticamente significativa del riesgo de PP para las pacientes con 4 partos o más; el hábito de fumar y el antecedente de PP mantienen el incremento en el riesgo de PP, la ITU y la longitud cervical < de 2.5cm tienen un incremento en el riesgo, con significancia estadística. En lo referente a la MMP-2 en plasma presenta un OR de 2.62 con un IC estadísticamente significativo, con la diferencia que en el análisis de PP en general el IC no fue significativo.

Tabla 25 - OR ajustado, de MMP-2 en plasma de parto prematuro espontáneo en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.

	OR^b ajustado	IC (95%)	Valor p
Edad de la madre			
<19	1.95	(0.54 – 7.06)	0.59
19 – 35	Ref	Ref	
>35	1.75	(0.39 – 7.73)	0.78
Paridad			
1	1.29	(0.52 – 3.20)	0.05
2 – 3	Ref	Ref	
4 o más	0.26	(0.08 – 0.81)	0.009
Hábito de fumar			
No	Ref	Ref	
Si	2.80	(1.17 – 6.65)	0.019
Antecedente parto prematuro anterior			
No	Ref	Ref	
1 parto	61.71	(23.56 – 161.66)	<.0001
2 partos	22.83	(6.03 – 86.33)	0.094
Vaginosis Bacteriana			
No	Ref	Ref	
Si	1.22	(0.46 – 3.23)	0.68
ITU			
No	Ref	Ref	
Si	4.58	(1.59 – 13.17)	0.0048
Longitud cervical			
>2.5cm	Ref	Ref	
<2.5cm	4.01	(1.16 – 13.78)	0.027
MMP-2 plasma			
>239.4 ng/ml	Ref	Ref	

<239.4 ng/ml 2.62 (1.19 – 5.78) 0.016

^b: ajustado por edad materna; paridad; tabaquismo; antecedente PP; longitud cervical; ITU; VB.

En la (tabla 26) presentamos el cálculo del OR de las características sociodemográficas, clínicas y la MMP-2 en secreción vaginal en relación a PP espontáneo, ajustados para edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente de PP, VB, ITU y longitud cervical, encontrando una disminución del riesgo de PP para las pacientes con 4 partos o más, con un valor estadísticamente significativo; el hábito de fumar y el antecedente de PP mantienen el incremento en el riesgo de PP, la ITU y la longitud cervical < de 2.5cm tienen un incremento en el riesgo, con significancia estadística, en el PP en general la longitud cervical no tiene significancia. En lo referente a la MMP-2 en secreción vaginal presenta un OR de 1.79 con un IC no significativo.

Tabla 26 - OR ajustado, de MMP-2 en secreción vaginal de parto prematuro espontáneo en relación a parto a término, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales

	OR^b ajustado	IC (95%)	Valor p
Edad de la madre			
<19	2.37	(0.66 – 8.43)	0.50
19 – 35	Ref	Ref	
>35	2.13	(0.48 – 9.40)	0.68
Paridad			
1	1.11	(0.46 – 2.67)	0.09
2 – 3	Ref	Ref	
4 o más	0.26	(0.085 – 0.806)	0.012
Hábito de fumar			
No	Ref	Ref	
Si	3.10	(1.29 – 7.40)	0.010
Antecedente parto prematuro anterior			
No	Ref	Ref	
1 parto	67.19	(25.32 – 178.31)	<.0001
2 partos	23.00	(6.16 – 85.79)	0.102
Vaginosis Bacteriana			

No	Ref	Ref	
Si	1.09	(0.40 – 2.95)	0.85
ITU			
No	Ref	Ref	
Si	4.59	(1.57 – 13.41)	0.005
Longitud cervical			
>2.5cm	Ref	Ref	
<2.5cm	3.96	(1.22 – 12.84)	0.021
MMP-2 vaginal			
<3.22 ng/ml	Ref	Ref	
>3.22 ng/ml	1.79	(0.83 – 3.87)	0.13

^b: ajustado por edad materna; paridad; tabaquismo; antecedente de PP; longitud cervical; ITU; VB.

5.2.2.3. Árbol de inferencia condicional

En la (figura 26), elaboramos un árbol de inferencia condicional que incluye a las MMPs y la longitud cervical teniendo como resultado la presencia de PP espontáneo, de acuerdo a esto encontramos que la MMP-9 en plasma con un valor de corte de 118.79 pg/ml, nos permite determinar 2 grupos, uno con valor mayor, en el cual están 22 pacientes caso. En el grupo con MMP-9 en plasma menor o igual a 118.79pg/ml, la variable que le sigue en significancia estadística condicional es MMP-2 en plasma, formando dos grupos con el valor de corte de 138.8ng/ml, en el grupo con valor menor o igual al punto de corte se encuentran, 20 PP espontáneos; en el grupo con valor de corte mayor a 138.8ng/ml, se tiene que tomar en cuenta un nuevo punto de corte de MMP-9 en plasma 60.92pg/ml, formando dos grupos uno con el valor mayor al punto de corte, seguido de la variable longitud cervical < de 2.6cm, donde encontramos 6 paciente caso.

Con el análisis de MMP-9 y MMP-2 en plasma, pudimos determinar el 60% de los pacientes que concluyeron en PP espontáneo; con el análisis de las dos variables anteriores y la longitud cervical determinamos 69%, de los futuros PP espontáneos.

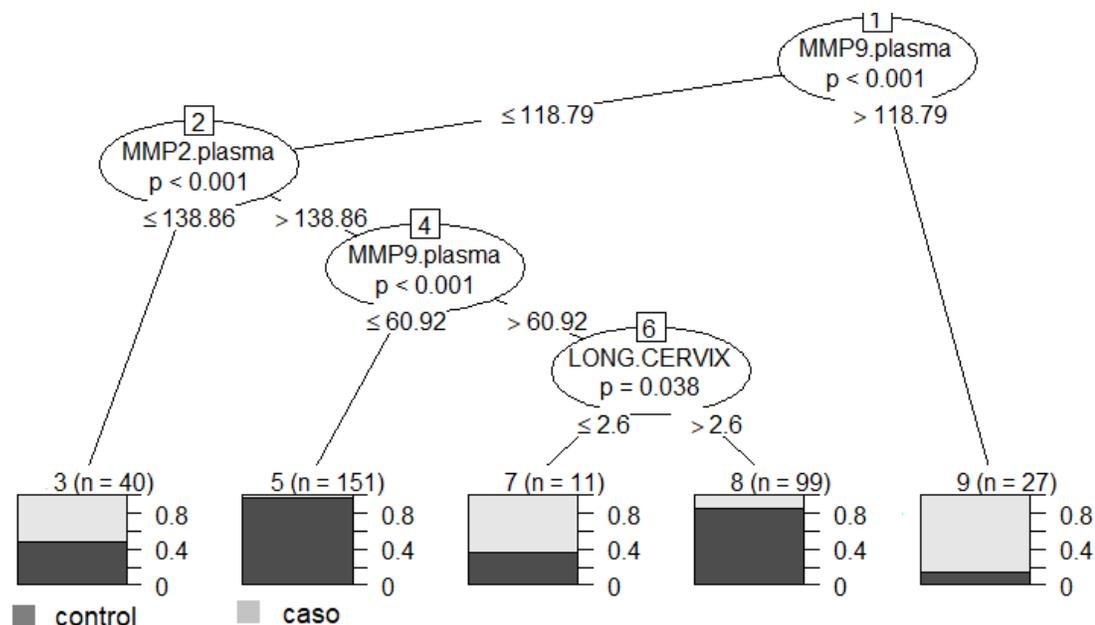


Figura 26: Árbol de inferencia condicional incluyendo: MMPs y longitud cervical, en relación a parto prematuro espontáneo.

En la (Figura 27 y 28) , las analizaremos conjuntamente porque la conclusión es la misma, elaboramos un árbol de inferencia condicional que incluye a las MMPs, la longitud cervical, la edad, la paridad, el hábito de fumar, la VB, la ITU excluyendo el antecedente de PP en un modelo y en el otro además excluimos VB e ITU, teniendo como resultado la presencia de PP espontáneo , de acuerdo a esto encontramos que la MMP-9 en plasma con un valor de corte de 118.79 pg/ml, nos permite, determinar 2 grupos uno con valor mayor, en el cual encontramos 23 pacientes con PP espontáneo.

En el grupo con MMP-9 en plasma menor o igual a 118.79pg/ml, la variable que le sigue en significancia estadística condicional es MMP-2 en plasma con un valor de corte de 136.86ng/ml, en el grupo con valor de corte menor o igual se encuentra un 50% de PP que corresponde a 20 pacientes, y mayor a 136.86 ng/ml , valoramos un segundo punto de corte en 60.92 pg/ml de MMP-9, y con valores superiores a este determinamos 22 pacientes caso.

Por tanto, con el análisis de MMP-9 y MMP-2 en plasma a diferentes puntos de corte encontramos un 92% de pacientes, cuyo desenlace será un PP espontáneo.

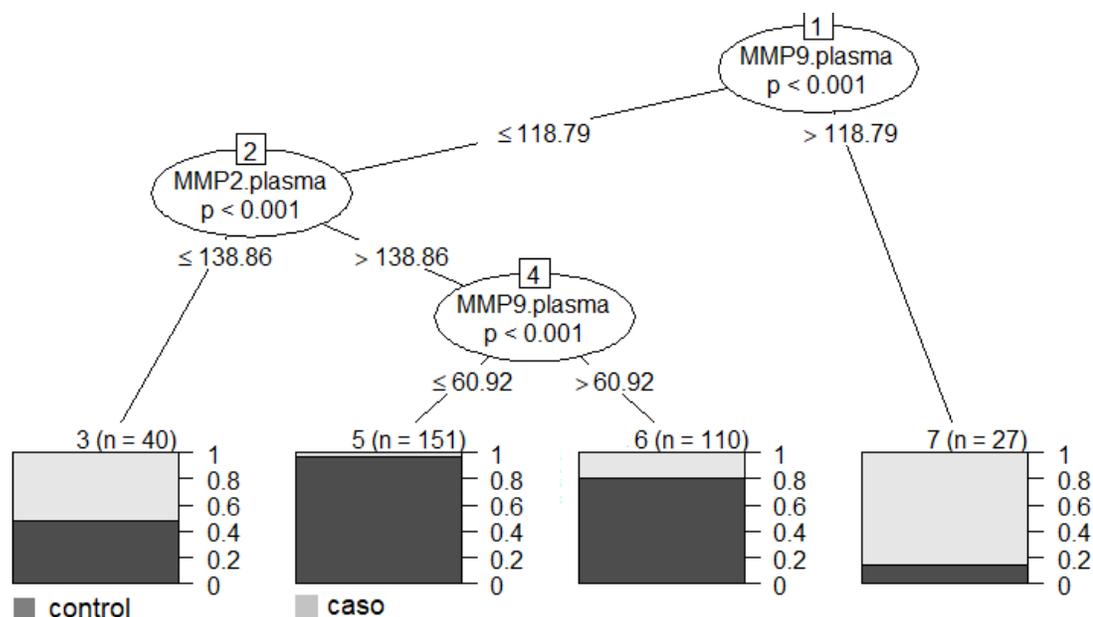


Figura 27: Árbol de inferencia condicional incluyendo: MMPs, longitud cervical, edad, paridad, hábito de fumar, VB, ITU, en relación a parto prematuro espontáneo.

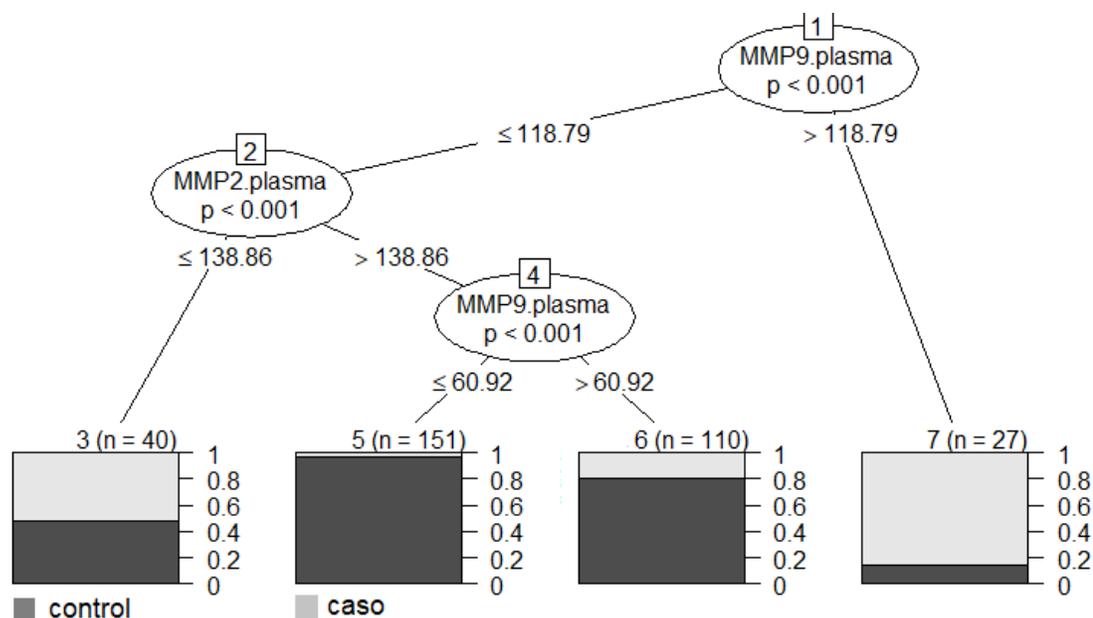


Figura 28: Árbol de inferencia condicional incluyendo: MMPs, longitud cervical, edad, paridad, hábito de fumar, en relación a parto prematuro espontáneo.

En la (figura 29), elaboramos un árbol de inferencia condicional que incluye a las MMPs, la longitud cervical, edad de la madre, paridad, antecedente de PP, VB e ITU teniendo como resultado la presencia de PP, de acuerdo a esto encontramos que el antecedente de PP es la variable condicional con mayor significancia, la cual nos permite formar dos grupos con y sin antecedente. En el primer grupo sin antecedente, la MMP-9 en plasma con un valor de corte de 140.94 pg/ml, determinamos 2 grupos uno con valor mayor, en el cual se encuentra un 81% de casos que corresponde a 6 pacientes. En el grupo con MMP-9 en plasma menor o igual al punto de corte, encontramos 2% de casos que corresponde a 5 pacientes. En el grupo con antecedente de PP, la MMP-9 con un valor de corte de 81.86pg/ml nos permite determinar que un valor igual o inferior, le sigue la variable condicional MMP-2 con un punto de corte de 137.95pg/ml, que incluye a 24 pacientes; los valores superiores a 81.86 pg/ml incluye a 29 pacientes.

Por tanto, tomando en cuenta el antecedente de PP presente y los pacientes con MMP-9 en plasma mayor a 81.86 pg/ml y MMP-2 menor a 137.95ng/ml, lograríamos encontrar un total de 60% de pacientes que pueden desencadenar un PP espontáneo.

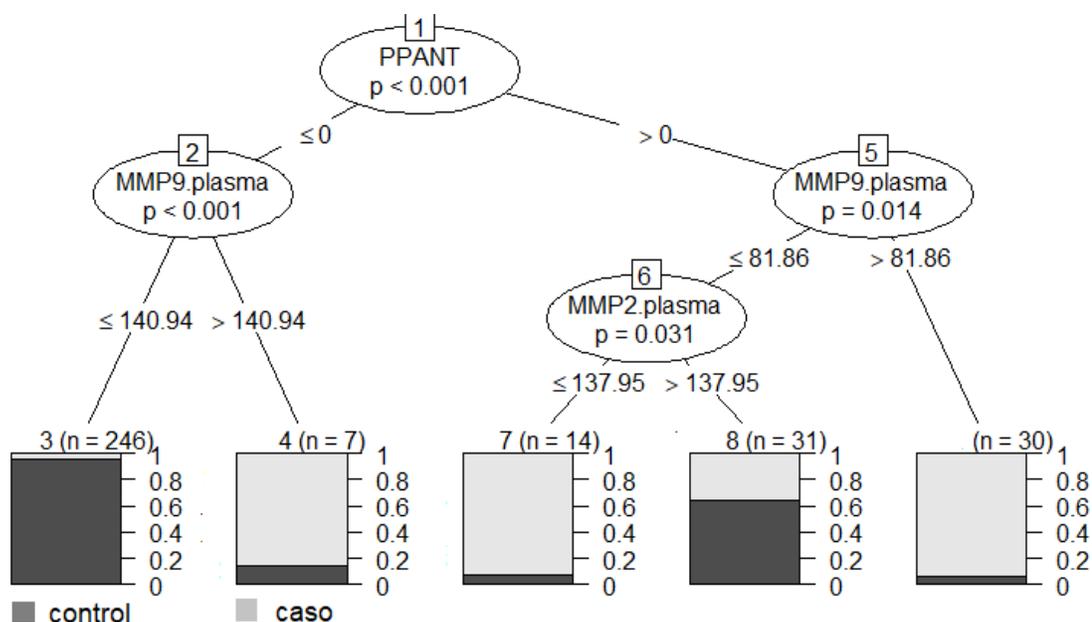


Figura 29: Árbol de inferencia condicional incluyendo: MMPs, longitud cervical, edad, paridad, hábito de fumar, VB, ITU, antecedente de PP; en relación a parto prematuro espontáneo.

5.2.2.4. Valores de test diagnóstico de las MMPs 2 y 9 en plasma

De las dos MMPs con significancia estadística, realizamos el análisis de los valores de test diagnóstico, determinando que la MMP-9 en plasma con un valor de corte de 119.3pg/ml; tiene sensibilidad baja, con una especificidad sobre 95% y valores predictivos sobre el 80%, con valores de LR+ sobre 10, que teóricamente lo convierten en un, altamente relevante test diagnóstico (tabla 27).

Tabla 27 - Valores de test diagnóstico de MMP-9 en plasma, valor de corte 119.3 pg/ml, de parto prematuro espontáneo en relación a parto a término.

MMP-9 plasma	valor	IC (95%)
Sensibilidad	0.32	(0.22 - 0.45)
Especificidad	0.98	(0.95 - 0.99)
Valor predictivo positivo	0.85	(0.73 - 0.96)
Valor predictivo negativo	0.84	(0.80 - 0.88)
LR +	21.19	(7.57 - 59.26)
LR -	0.68	(0.57 - 0.80)

La MMP-9 en plasma con un valor de corte de 63.25 pg/ml; tiene sensibilidad y especificidad sobre 60%, valor predictivo negativo sobre el 85%, y con LRs que lo convierte en mal test diagnóstico (tabla 28).

Tabla 28 - Valores de test diagnóstico de MMP-9 en plasma, valor de corte 63.25 pg/ml, de parto prematuro espontáneo en relación a parto a término.

MMP-9 plasma	valor	IC (95%)
Sensibilidad	0.62	(0.50 - 0.73)
Especificidad	0.62	(0.56 - 0.68)
Valor predictivo positivo	0.31	(0.24 - 0.38)
Valor predictivo negativo	0.86	(0.82 - 0.89)
LR +	1.68	(1.32 - 2.14)
LR -	0.59	(0.43 - 0.81)

La MMP-2 en plasma con un valor de corte de 239.4 ng/ml; tiene sensibilidad y especificidad sobre 50%, valor predictivo negativo sobre el 80%, y con LR's que lo convierte en mal test diagnóstico (tabla 29).

Tabla 29 - Valores de test diagnóstico de MMP-2 en plasma valor de corte 239.4 ng/ml, de parto prematuro espontáneo en relación a parto a término.

MMP-2 plasma	valor	IC (95%)
Sensibilidad	0.64	(0.51 - 0.75)
Especificidad	0.58	(0.51 - 0.64)
Valor predictivo positivo	0.29	(0.23 - 0.35)
Valor predictivo negativo	0.85	(0.81 - 0.89)
LR +	1.53	(1.22 - 1.92)
LR -	0.61	(0.44 - 0.85)

5.3. Descripción del análisis de los resultados de la tercera sección

En esta tercera parte, las mismas variables independientes y de confusión, las analizaremos en relación a PP espontáneo comparado con PP no espontáneo.

El total de nuestra población lo constituyo, 1370 pacientes de las cuales 70 tuvieron un parto antes de las 37 semanas, considerado PP espontáneo, que corresponde al 5.1% y 59 pacientes tuvieron PP no espontáneo que corresponde al 4.3%.

5.3.1. Análisis parto prematuro espontáneo en relación a parto prematuro no espontáneo

En este análisis del estudio caso control, los 70 PP espontáneos fueron comparados con 59 PP no espontáneos, para determinar la relación con MMPs 2 y 9, y otras variables socio demográficas, clínicas y laboratoriales, mediante estadística descriptiva e inferencial.

5.3.1.1. Estadística descriptiva

En la (tabla 30), podemos determinar que, al comparar las características de los dos grupos, no encontramos diferencia significativa en ninguna de las variables.

Tabla 30 - Comparación de las características maternas gestacionales, ultrasonográficas y laboratoriales, entre parto prematuro espontáneo y parto prematuro no espontáneo.

Características	Parto Prematuro espontáneo y no espontáneo		P
	Si (n = 70)	No (n = 59)	
Edad Materna (años), n (%)			
<19	8 (11.43)	6 (10.17)	0.97 ^a
19-35	56 (80)	48 (81.36)	
>35	6 (8.57)	5 (8.47)	
Paridad n (%)			
1	26 (37.14)	22 (37.29)	0.74 ^a
2 - 3	32 (45.71)	24 (40.68)	
≥ 4	12 (17.14)	13 (22.03)	
Tabaquismo n (%)	25 (35.71)	21 (35.59)	0.98 ^a
Vaginosis Bacteriana n (%)	14 (20)	6 (10.34)	0.13 ^a

Antecedente PP n (%)	52 (62.29)	36 (61.10)	0.24 ^a
Urocultivo positivo n (%)	10 (14.29)	6(10.34)	0.50 ^a
Cuello uterino <2.5 cm	14 (20.29)	5 (8.47)	0.06 ^a
Edad Gestacional(días), media (DE)	239.5 (21.89)	243.63 (18.12)	

^a: Chi square test; DE: desviación estandar.

En la (tabla 31), podemos determinar que las medias y medianas de la MMP-9 en secreción vaginal son superiores, en las pacientes del grupo de PP espontaneo, en cuanto a la MMP-2 y MMP-9 en plasma, los valores de media y mediana son inferiores en este grupo.

Tabla 31 - Comparación medidas tendencia central y dispersión de las MMPs, entre parto prematuro espontáneo y parto prematuro no espontáneo.

	G	MA	M	DE	M	QI	QS	VM	VMx
MMP-2 plasma	caso	70	211.51	107.74	197.72	129.61	271.05	29.91	456.70
MMP-2 vaginal		69	6.03	7.27	3.95	1.21	7.85	0.03	43.80
MMP-9 plasma		70	93.51	50.38	81.99	51.62	130.11	14.35	208.48
MMP-9 vaginal		69	204.95	161.42	194.11	87.44	296.72	4.11	823.93
MMP-2 plasma	control	58	258.07	106.47	248.22	171.22	343.62	33.67	483.39
MMP-2 vaginal		58	31.06	68.09	2.96	1.54	11.84	0.22	259.24
MMP-9 plasma		58	99.22	52.75	89.07	56.21	135.21	5.69	211.93
MMP-9 vaginal		55	128.49	132.29	79.81	19.36	202.72	1.90	481.80

G: grupo; MA: muestras analizadas; m: media; M: mediana; DE: desviación estándar; QI: cuartil inferior; QS: cuartil superior; VM: valor mínimo; VMx: valor máximo.

En la (tabla 32), de acuerdo, a la distribución de normalidad o no de las variables, escogimos el test t de student para comparar las medias de MMP-2 en plasma, encontrando un valor p estadísticamente significativo; para la MMP-2 en secreción vaginal, la MMP-9 en plasma y la MMP-9 en secreción vaginal, utilizamos sus medianas y aplicamos el test Mann-Whitney, encontrando un valor p estadísticamente significativo solo para MMP-9 en secreción vaginal, esta última variable no tuvo diferencia en el análisis de secciones anteriores.

Tabla 32 - Concentración de MMPs en plasma y secreción vaginal, en PP espontáneo y PP no espontáneo.

Metaloproteinasa	PP espontáneo (n = 70)	PP no espontáneo (n = 59)	p
MMP2 plasma, media (ES)	211.5 (12.8)	258.07 (13.97)	0.03 ^a
MMP2, vaginal, mediana (IIQ)	3.95 (6.64)	2.96 (10.30)	0.55 ^b
MMP9 plasma, mediana (IIQ)	81.9 (78.48)	89.07.2 (79.0)	0.50 ^b
MMP9, vaginal, mediana (IIQ)	194.1 (209.28)	79.81 (183.36)	0.002 ^b

^a: Student t test; ^b: Mann-Whitney test; IIQ: intervalo Inter cuartil; ES: error estándar.

Estas diferencias podemos observarlas de mejor manera en los box-plot que tenemos a continuación, algo que llama la atención es la gran dispersión de los datos en la variable MMP-2 vaginal tanto en casos y controles.

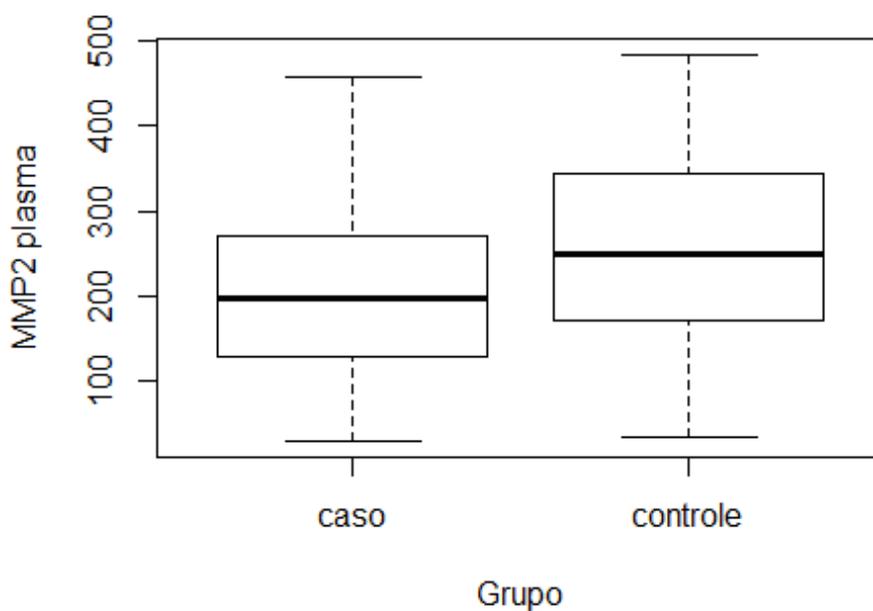


Figura 30: Box-plot MMP-2 en plasma, en parto prematuro espontáneo y parto prematuro no espontáneo.

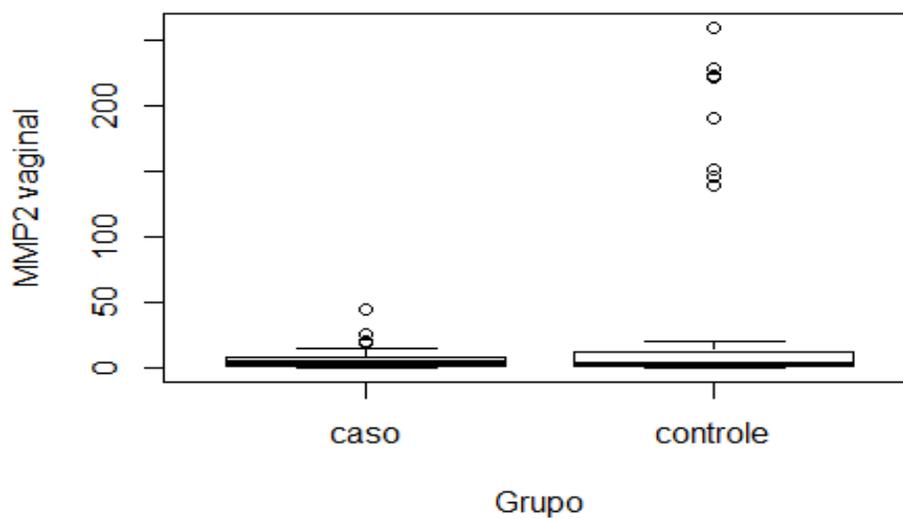


Figura 31: Box-plot MMP-2 en secreción vaginal, en parto prematuro espontáneo y parto prematuro no espontáneo.

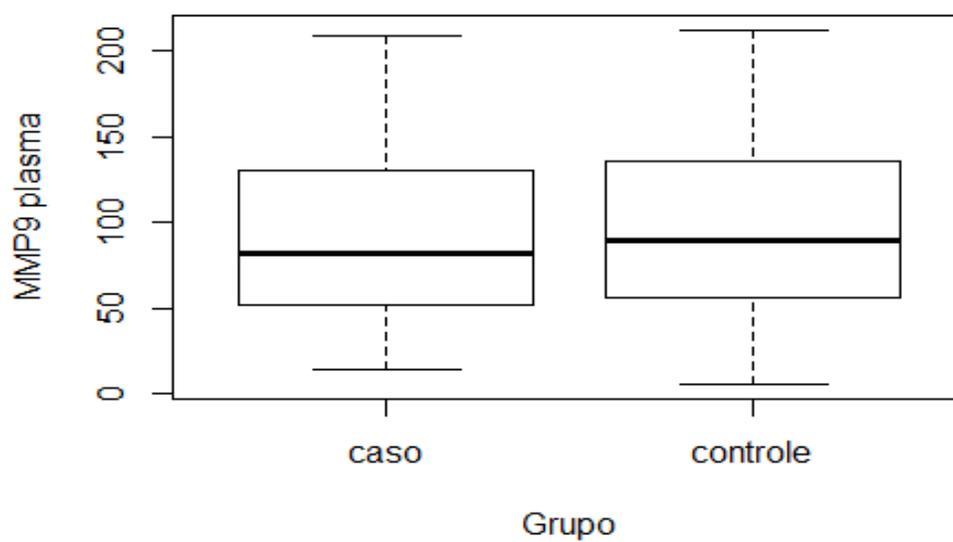


Figura 32: Box-plot MMP-9 en plasma, en parto prematuro espontáneo y parto prematuro no espontáneo.

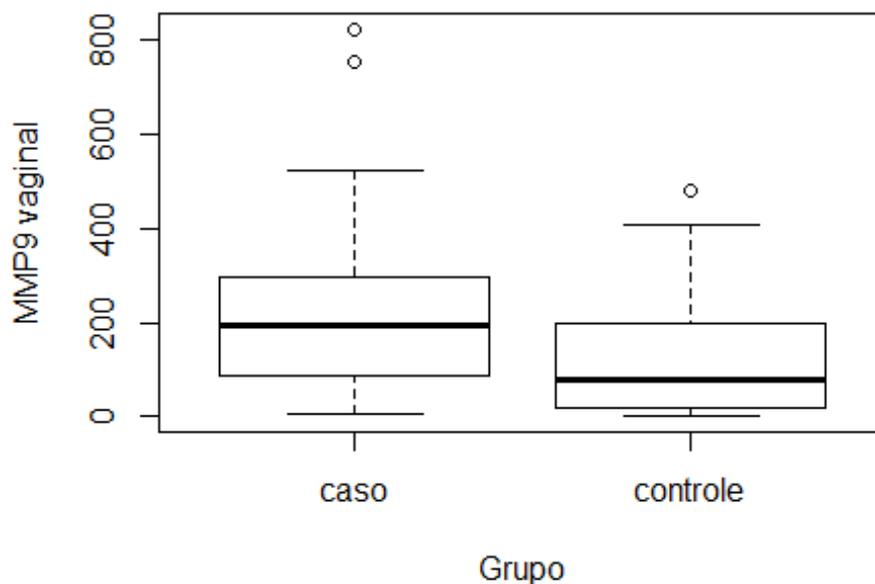


Figura 33: Box-plot MMP-9 en secreción vaginal, en parto prematuro espontáneo y parto prematuro no espontáneo.

5.3.2. Estadística analítica, de las MMPs, las características sociodemográficas y clínicas entre parto prematuro espontáneo y parto prematuro no espontáneo

5.3.2.1. Cálculo de OR crudo

Para realizar la inferencia estadística, calculamos el OR crudo mediante regresión logística univariada, como observamos en la (tabla 33), encontrando un valor estadísticamente significativo con incremento de riesgo de PP espontáneo, para longitud cervical $<2.5\text{cm}$ y en lo referente a las MMPs, los valores de MMP-2 en plasma, bajo 239.4 ng/ml y de MMP-9 en secreción vaginal sobre 145.1 pg/ml incrementaron el riesgo de PP espontáneo con un IC estadísticamente significativo, los valores de MMP-9 en plasma y MMP-2 vaginal no se encontró diferencia.

Tabla 33 - OR crudo, de características sociodemográficas, clínicas y MMPs de parto prematuro espontáneo en relación a parto prematuro no espontáneo.

	PP espontáneo n (%)	PP No espontáneo n (%)	OR^a crudo	IC (95%)
Edad de la madre				
<19	8(11.43)	6(10.17)	1.14	(0.37 – 3.52)
19 – 35	56(80)	48(81.36)	Ref	Ref
>35	6(8.57)	5(8.47)	1.029	(0.29 – 3.58)
Paridad				
1	26(37.14)	22(37.29)	0.88	(0.40 – 1.92)
2 – 3	32(45.71)	24(40.68)	Ref	Ref
4 o más	12(17.14)	13(22.03)	0.69	(0.26 – 1.78)
Hábito de fumar				
No	45(64.29)	38(64.41)	Ref	Ref
Si	25(35.71)	21(35.59)	1.00	(0.48 – 2.07)
Antecedente parto prematuro anterior				
No	18(25.71)	23(38.98)	Ref	Ref
1 parto	43(61.43)	31(52.54)	1.77	(0.82 – 3.83)
2 partos	9(12.86)	5(8.47)	2.30	(0.65 – 8.07)
Vaginosis Bacteriana				
No	56(80)	52(89.66)	Ref	Ref
Si	14(20)	6(10.34)	2.16	(0.77 – 6.05)
ITU				
No	60(85.71)	52(89.66)	Ref	Ref
Si	10(14.29)	6(10.34)	1.44	(0.49 – 4.24)
Longitud cervical				
>2.5cm	55(79.71)	54(91.53)	Ref	Ref
<2.5cm	14(20.29)	5(8.47)	2.13	(1.05 – 4.33)
MMP-2 plasma				

>239.4 ng/ml	25(35.71)	32(54.24)	Ref	Ref
<239.4 ng/ml	45(64.29)	27(45.76)	2.50	(1.44 – 4.32)
MMP-2 vaginal				
<3.22 ng/ml	31(44.29)	31(52.54)	Ref	Ref
>3.22 ng/ml	39(55.71)	28(47.46)	1.39	(0.69 – 2.79)
MMP-9 plasma				
<63.25 pg/ml	26(37.14)	18(30.51)	Ref	Ref
>63.25 pg/ml	44(62.86)	41(66.49)	0.74	(0.35 – 1.55)
<119.3 pg/ml	47(67.14)	39(66.10)	Ref	Ref
> 119.3 pg/ml	23(32.86)	20(33.90)	0.95	(0.45 – 1.98)
MMP-9 vaginal				
<145.1 pg/ml	25(35.71)	35(59.32)	Ref	Ref
>145.1 pg/ml	45(64.29)	24(40.68)	2.62	(1.28 – 5.35)

OR: razón de probabilidades; IC: intervalo de confianza; ^a: regresión logística.

5.3.2.2. Cálculo OR ajustado

En la (tabla 34) presentamos el cálculo del OR de las características sociodemográficas, clínicas y MMPs en relación a PP espontáneo comparado con PP no espontáneo, ajustado para edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente de PP, vaginosis bacteriana, ITU y longitud cervical, encontrando, que la MMP-2 en plasma con sus valores menores de 239.4 ng/ml incrementan la probabilidad de PP espontáneo, el resto de variables no presento diferencia.

Tabla 34 - OR ajustado, de características sociodemográficas, clínicas y MMPs, de parto prematuro espontáneo en relación a parto prematuro no espontáneo.

	OR ^b ajustado	IC (95%)	Valor p
Edad de la madre			
<19	0.83	(0.22 – 3.14)	0.83

19 – 35	Ref	Ref	
>35	0.95	(0.22 – 3.98)	0.95
Paridad			
1	1.06	(0.40 – 2.77)	0.31
2 – 3	Ref	Ref	
4 o más	0.41	(0.13 – 1.28)	0.10
Hábito de fumar			
No	Ref	Ref	
Si	0.68	(0.27 – 1.69)	0.41
Antecedente parto prematuro anterior			
No	Ref	Ref	
1 parto	1.81	(0.74 – 4.41)	0.59
2 partos	2.0	(0.43 – 9.37)	0.57
Vaginosis Bacteriana			
No	Ref	Ref	
Si	2.09	(0.62 – 7.00)	0.23
ITU			
No	Ref	Ref	
Si	1.84	(0.54 – 6.32)	0.32
Longitud cervical			
>2.5cm	Ref	Ref	
<2.5cm	3.58	(0.97 – 13.21)	0.05
MMP-2 plasma			
>239.4 ng/ml	Ref	Ref	
<239.4 ng/ml	2.52	(1.04 – 6.09)	0.03
MMP-2 vaginal			
<3.22 ng/ml	Ref	Ref	
>3.22 ng/ml	1.18	(0.52 – 2.66)	0.68

MMP-9 plasma			
<63.25 pg/ml	Ref	Ref	
>63.25 pg/ml	0.94	(0.39 – 2.27)	0.89
MMP-9 vaginal			
<145.1 pg/ml	Ref	Ref	
>145.1 pg/ml	1.97	(0.83 – 4.65)	0.11

OR: razón de probabilidades; IC: intervalo de confianza; ^b: regresión logística multivariada ajustada con: edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente PP, VB, ITU, longitud cervical.

En la (tabla 35) presentamos el cálculo del OR de las características sociodemográficas, clínicas y la MMP-9 en plasma en relación a PP espontáneo comparado con PP no espontáneo, ajustado para edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente de PP, VB, ITU y longitud cervical, sin encontrar significancia en ninguna de las variables.

Tabla 35 - OR ajustado, de MMP-9 en plasma de parto prematuro espontáneo en relación a parto prematuro no espontáneo, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.

	OR^b ajustado	IC (95%)	Valor p
Edad de la madre			
<19	1.13	(0.33 – 3.92)	0.89
19 – 35	Ref	Ref	
>35	1.07	(0.27 – 4.15)	0.99
Paridad			
1	0.75	(0.31 – 1.85)	0.77
2 – 3	Ref	Ref	
4 o más	0.44	(0.15 – 1.27)	0.18
Hábito de fumar			
No	Ref	Ref	

Si	0.82	(0.35 – 1.91)	0.64
Antecedente parto prematuro anterior			
No	Ref	Ref	
1 parto	2.14	(0.92 – 5.00)	0.35
2 partos	2.01	(0.46 – 8.65)	0.64
Vaginosis Bacteriana			
No	Ref	Ref	
Si	2.31	(0.72 – 7.37)	0.15
ITU			
No	Ref	Ref	
Si	1.91	(0.58 – 6.22)	0.28
Longitud cervical			
>2.5cm	Ref	Ref	
<2.5cm	3.44	(0.99 – 11.95)	0.05
MMP-9 plasma			
<63.25 pg/ml	Ref	Ref	
>63.25 pg/ml	0.69	(0.31 – 1.55)	0.37

^b: ajustado por edad maternal; paridad; tabaquismo; antecedente PP; longitud cervical; ITU; VB.

En la (tabla 36) presentamos el cálculo del OR de las características sociodemográficas, clínicas y la MMP-9 en secreción vaginal en relación a PP espontáneo comparado con PP no espontáneo, ajustado para edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente de PP, VB, ITU y longitud cervical, encontrando como resultado, que los valores de MMP-9 en secreción vaginal sobre 145.1pg/ml incrementaron el riesgo de PP espontáneo con un IC estadísticamente significativo.

Tabla 36 - OR ajustado, de MMP-9 en secreción vaginal de parto prematuro espontáneo en relación a parto prematuro no espontáneo, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.

	OR^b ajustado	IC (95%)	Valor p
Edad de la madre			
<19	0.99	(0.27 – 3.57)	0.97
19 – 35	Ref	Ref	
>35	1.05	(0.26 – 4.18)	0.94
Paridad			
1	0.91	(0.36 – 2.27)	0.62
2 – 3	Ref	Ref	
4 o más	0.53	(0.18 – 1.56)	0.26
Hábito de fumar			
No	Ref	Ref	
Si	0.65	(0.27 – 1.59)	0.35
Antecedente parto prematuro anterior			
No	Ref	Ref	
1 parto	1.82	(0.77 – 4.30)	0.52
2 partos	1.85	(0.42 – 8.08)	0.65
Vaginosis Bacteriana			
No	Ref	Ref	
Si	1.98	(0.60 – 6.51)	0.25
ITU			
No	Ref	Ref	
Si	1.61	(0.49 – 5.31)	0.42
Longitud cervical			
>2.5cm	Ref	Ref	
<2.5cm	3.43	(0.96 – 12.20)	0.05

MMP-9 vaginal			
<145.1 pg/ml	Ref	Ref	
>145.1 pg/ml	2.30	(1.02 – 5.18)	0.04

^b: ajustado por edad materna; paridad; tabaquismo; antecedente PP; longitud cervical; ITU; VB.

En la (tabla 37) presentamos el cálculo del OR de las características sociodemográficas, clínicas y la MMP-2 en plasma en relación a PP espontáneo comparado con PP no espontáneo, ajustado para edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente de PP, VB, ITU y longitud cervical, encontrando incremento en el riesgo de PP espontáneo, con una longitud cervical < de 2.5cm y la MMP-2 en plasma menor de 239.4 ng/ml.

Tabla 37 - OR ajustado, de MMP-2 en plasma de parto prematuro espontáneo en relación a parto prematuro no espontáneo, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.

	OR^b ajustado	IC (95%)	Valor p
Edad de la madre			
<19	0.96	(0.26 – 3.51)	0.97
19 – 35	Ref	Ref	
>35	0.89	(0.22 – 3.51)	0.89
Paridad			
1	0.95	(0.37 – 2.45)	0.31
2 – 3	Ref	Ref	
4 o más	0.34	(0.11 – 1.04)	0.05
Hábito de fumar			
No	Ref	Ref	
Si	0.81	(0.34 – 1.94)	0.64
Antecedente parto prematuro anterior			
No	Ref	Ref	

1 parto	1.96	(0.83 – 4.66)	0.49
2 partos	2.44	(0.46 – 9.27)	0.58
Vaginosis Bacteriana			
No	Ref	Ref	
Si	2.44	(0.74 – 7.95)	0.13
ITU			
No	Ref	Ref	
Si	2.02	(0.60 – 6.74)	0.25
Longitud cervical			
>2.5cm	Ref	Ref	
<2.5cm	3.78	(1.04 – 13.71)	0.04
MMP-2 plasma			
>239.4 ng/ml	Ref	Ref	
<239.4 ng/ml	2.79	(1.23 – 6.35)	0.01

^b: ajustado por edad materna; paridad; tabaquismo; antecedente PP; longitud cervical; ITU; VB.

En la (tabla 38) presentamos el cálculo del OR de las características sociodemográficas, clínicas y la MMP-2 en secreción vaginal en relación a PP espontáneo comparado con PP no espontáneo, ajustados para edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente de PP, VB, ITU y longitud cervical, encontrando incremento en el riesgo, solo en el caso de longitud cervical < de 2.5cm.

Tabla 38 - OR ajustado, de MMP-2 en secreción vaginal de parto prematuro espontáneo en relación a parto prematuro no espontáneo, de acuerdo a características sociodemográficas, clínicas y laboratoriales.

	OR^b ajustado	IC (95%)	Valor p
Edad de la madre			
<19	1.14	(0.32 – 3.95)	0.88

19 – 35	Ref	Ref	
>35	1.05	(0.27 – 4.07)	0.98
Paridad			
1	0.78	(0.32 – 1.90)	0.74
2 – 3	Ref	Ref	
4 o más	0.46	(0.15 – 1.33)	0.20
Hábito de fumar			
No	Ref	Ref	
Si	0.81	(0.34 – 1.89)	0.62
Antecedente parto prematuro anterior			
No	Ref	Ref	
1 parto	2.08	(0.89 – 4.85)	0.33
2 partos	1.83	(0.43 – 7.83)	0.72
Vaginosis Bacteriana			
No	Ref	Ref	
Si	2.16	(0.67 – 6.96)	0.19
ITU			
No	Ref	Ref	
Si	1.86	(0.57 – 6.06)	0.30
Longitud cervical			
>2.5cm	Ref	Ref	
<2.5cm	3.58	(1.02 – 12.45)	0.04
MMP-2 vaginal			
<3.22 ng/ml	Ref	Ref	
>3.22 ng/ml	1.35	(0.63 – 2.88)	0.43

^b: ajustado por edad materna; paridad; tabaquismo; antecedente de PP; longitud cervical; ITU; VB.

5.3.2.3. Valores de test diagnóstico de las MMPs 2 en plasma y 9 en secreción vaginal

De las dos MMPs con significancia estadística, realizamos el análisis de los valores de test diagnóstico, determinando que la MMP-9 en secreción vaginal; tiene sensibilidad, especificidad y valores predictivos sobre el 50%, con valores de LR que lo presentan como un mal test diagnóstico (tabla 39).

Tabla 39 - Valores de test diagnóstico de MMP-9 en secreción vaginal, valor de corte 145.1 pg/ml, de parto prematuro espontáneo en relación a parto prematuro no espontáneo.

MMP-9 vaginal	valor	IC (95%)
Sensibilidad	0.54	(0.45 - 0.62)
Especificidad	0.64	(0.51 - 0.75)
Valor predictivo positivo	0.65	(0.55 - 0.74)
Valor predictivo negativo	0.58	(0.47 - 0.69)
LR +	1.58	(1.10 - 2.25)
LR -	0.60	(0.41 - 0.87)

La MMP-2 en plasma; tiene sensibilidad, especificidad y valores predictivos sobre el 50%, con valores de LR que lo presentan como un mal test diagnóstico (tabla 40).

Tabla 40 - Valores de test diagnóstico de MMP-2 en plasma valor de corte 239.4 ng/ml, de parto prematuro espontáneo en relación a parto prematuro no espontáneo.

MMP-2 plasma	valor	IC (95%)
Sensibilidad	0.64	(0.51 - 0.75)
Especificidad	0.54	(0.40 - 0.67)
Valor predictivo positivo	0.62	(0.52 - 0.72)
Valor predictivo negativo	0.56	(0.45 - 0.67)
LR +	1.40	(1.01 - 1.95)
LR -	0.65	(0.44 - 0.97)

5.4. Descripción del análisis de los resultados de la cuarta sección

En esta cuarta parte, mostramos en tablas condensadas los OR crudos y ajustados de las variables sociodemográficas, clínicas y las MMPs, en los tres grupos de análisis PP en general como caso y sus controles los PA, PP espontaneo como caso y sus controles PA y por último PP espontaneo en comparación con PP no espontáneo.

5.4.1. Análisis de OR crudo

En la (tabla 41), podemos determinar que la edad, paridad no presentan modificaciones en los tres análisis; el hábito de fumar y el antecedente de PP pierden su significancia estadística en la tercera comparación; la VB presenta ORs inferiores a uno en las dos primeras comparaciones pero en la tercera al analizar PP espontaneo en comparación con no espontáneo presenta un OR 2.16 que pese no ser significativo, representa un cambio en la tendencia de los resultados; la ITU no tiene modificaciones mantiene sus ORs sobre uno pero sin significancia estadística; la longitud cervical < a 2.5cm se mantiene con su incremento de riesgo significativo.

En lo referente a las MMPs, la MMP-2 en plasma con valores inferiores a 239.4 ng/ml se mantiene con incremento en riesgo estadísticamente significativo para PP general, PP espontáneo comparados con PA y para PP espontáneo comparado con PP no espontáneo; la MMP-9 en plasma en las dos primeras comparaciones mantiene el riesgo aumentado, pero al comparar PP espontáneo con PP no espontáneo el OR es 0.74 con un IC no significativo; la MMP-9 en secreción vaginal en las dos primeras comparaciones presenta valores no significativos, pero en la tercera comparación se presenta con OR de 2.62 e IC estadísticamente significativo y por último la MMP-2 en secreción vaginal no presenta ningún cambio.

Tabla 41 - Comparación ORs crudos, de MMPs de parto prematuro y parto prematuro espontáneo con relación a parto a término y ORs crudos, de MMPs de parto prematuro espontáneo con relación a parto prematuro no espontáneo.

	PP relación PA		PP espontáneo con relación PA		PP espontáneo con relación PP no espontáneo	
Edad de la madre						
<19	1.40	(0.68 - 2.87)	1.49	(0.62 - 3.54)	1.14	(0.37 - 3.52)
19 - 35	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
>35	1.28	(0.58 - 2.82)	1.30	(0.49 - 3.43)	1.02	(0.29 - 3.58)
Paridad						
1	0.92	(0.58 - 1.47)	0.88	(0.49 - 1.57)	0.88	(0.40 - 1.92)
2 - 3	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
4 o más	1.69	(0.91 - 3.14)	1.42	(0.66 - 3.09)	0.69	(0.26 - 1.78)
Hábito de fumar						
No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
Si	2.09	(1.31 - 3.34)	2.09	(1.18 - 3.72)	1.00	(0.48 - 2.07)
Antecedente parto prematuro anterior						
No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
1 parto	24.94	(13.38 - 46.50)	33.02	(15.7 - 69)	1.77	(0.82 - 3.83)
2 partos	13.37	(4.86 - 36.80)	19.58	(6.2 - 61.1)	2.30	(0.65 - 8.07)
Vaginosis Bacteriana						
No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
Si	0.99	(0.55 - 1.78)	1.34	(0.68 - 2.64)	2.16	(0.77 - 6.05)
ITU						
No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
Si	1.22	(0.63 - 2.36)	1.42	(0.65 - 3.10)	1.44	(0.49 - 4.24)
Longitud cervical						
>2.5cm	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
<2.5cm	3.57	(1.67 - 7.61)	5.21	(2.28 - 11.9)	2.13	(1.05 - 4.33)
MMP-2 plasma						
>239.4 ng/ml	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
<239.4 ng/ml	1.75	(1.14 - 2.68)	2.50	(1.44 - 4.32)	2.50	(1.44 - 4.32)
MMP-2 vaginal						
<3.22 ng/ml	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
>3.22 ng/ml	1.04	(0.68 - 1.59)	1.22	(0.71 - 2.07)	1.39	(0.69 - 2.79)

MMP-9 plasma						
<63.25 pg/ml	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
>63.25 pg/ml	3.26	(2.09 - 5.07)	2.85	(1.65 – 4.93)	0.74	(0.35 – 1.55)
MMP-9 vaginal						
<119.3 pg/ml	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
> 119.3 pg/ml	31.75	(11.07 - 91.03)	31.06	(10.2 – 93.9)	0.95	(0.45 – 1.98)
<145.1 pg/ml	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
>145.1 pg/ml	1.00	(0.65 - 1.52)	1.56	(0.90 – 2.70)	2.62	(1.28 – 5.35)

5.4.2. Análisis de OR ajustado

En la (tabla 42), podemos determinar que la edad, no presenta modificaciones en los tres análisis; la paridad al relacionar 4 partos o más el cual disminuye el riesgo de PP en las dos primeras comparaciones pierde la significación estadística en la tercera comparación; el hábito de fumar y el antecedente de PP pierden su significancia estadística en la tercera comparación; la VB presenta ORs inferiores a uno en la primera comparación, en la segunda y la tercera comparación al analizar PP espontaneo en comparación con PA y con PP no espontáneo respectivamente presenta un OR sobre 1 que aunque no es significativo, representa un cambio en la tendencia de los resultados; la ITU no tienen modificaciones mantiene sus ORs sobre uno pero sin significancia estadística; la longitud cervical <2.5cm se mantiene con su incremento de riesgo, pero pierde la significancia en el tercer análisis.

En lo referente a las MMPs, la MMP-2 en plasma con valores inferiores a 239.4 ng/ml se mantiene con incremento en riesgo estadísticamente significativo para PP general, PP espontaneo comparados con PA y para PP espontáneo comparado con PP no espontáneo; la MMP-9 en plasma en las dos primeras comparaciones mantiene el riesgo aumentado, pero al comparar PP espontáneo con PP no espontáneo el OR es 0.94 con un IC no significativo; la MMP-9 en secreción vaginal en los tres análisis presenta valores no significativos, con pérdida de significancia en la tercera comparación en relación al OR crudo.

Tabla 42 - Comparación ORs ajustados, de MMPs de parto prematuro y parto prematuro espontáneo con relación a parto a término y ORs ajustados, de MMPs de parto prematuro espontáneo con relación a parto prematuro no espontáneo.

	PP relación PA		PP espontáneo con relación PA		PP espontáneo con relación PP no espontáneo	
Edad de la madre						
<19	2.34	(0.89-6.13)	1.92	(0.52 – 7.06)	0.83	(0.22 – 3.14)
19 – 35	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
>35	1.58	(0.52-4.73)	1.91	(0.38 – 9.50)	0.95	(0.22 – 3.98)
Paridad						
1	1.06	(0.54-2.10)	1.28	(0.50 – 3.29)	1.06	(0.40 – 2.77)
2 – 3	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
4 o más	0.31	(0.12-0.83)	0.21	(0.062 – 0.71)	0.41	(0.13 – 1.28)
Hábito de fumar						
No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
Si	2.67	(1.35-5.25)	3.56	(1.41 – 9.00)	0.68	(0.27 – 1.69)
Antecedente parto prematuro anterior						
No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
1 parto	31.76	(14.78-68.28)	64.68	(22.81 – 183.37)	1.81	(0.74 – 4.41)
2 partos	12.22	(3.84-38.81)	22.3	(5.53 – 89.89)	2.0	(0.43 – 9.37)
Vaginosis Bacteriana						
No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
Si	0.68	(0.29-1.58)	1.01	(0.40 – 3.02)	2.09	(0.62 – 7.00)
ITU						
No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
Si	2.50	(1.06-5.90)	6.01	(1.9 – 18.86)	1.84	(0.54 – 6.32)
Longitud cervical						
>2.5cm	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
<2.5cm	2.62	(0.91-7.57)	4.22	(1.17 – 15.15)	3.58	(0.97 – 13.21)
MMP-2 plasma						
>239.4 ng/ml	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
<239.4 ng/ml	1.86	(1.01-3.42)	3.84	(1.62 – 9.11)	2.52	(1.04 – 6.09)
MMP-2 vaginal						

<3.22 ng/ml	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
>3.22 ng/ml	1.42	(0.75-2.68)	1.88	(0.80 – 4.39)	1.18	(0.52 – 2.66)
MMP-9 plasma						
<63.25 pg/ml	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
>63.25 pg/ml	3.03	(1.65-5.54)	3.17	(1.38 – 7.25)	0.94	(0.39 – 2.27)
MMP-9 vaginal						
<145.1 pg/ml	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
>145.1 pg/ml	0.65	(0.34-1.24)	1.00	(0.43 – 2.32)	1.97	(0.83 – 4.65)

En la (tabla 43), podemos determinar que la edad, no presenta modificaciones en los tres análisis; la paridad al relacionar 4 partos o más el cual disminuye el riesgo de PP en las dos primeras comparaciones pierde la significación estadística en la tercera comparación; el hábito de fumar y el antecedente de PP pierden su significancia estadística en la tercera comparación; la VB presenta ORs inferiores a uno en la primera comparación, en la segunda y la tercera comparación al analizar PP espontáneo en comparación con PA y con PP no espontáneo respectivamente presenta un OR sobre 1 que aunque no es significativo, representa un cambio en la tendencia de los resultados al igual que en los análisis anteriores; la ITU no tienen modificaciones mantiene sus ORs sobre uno pero sin significancia estadística; la longitud cervical <2.5cm se mantiene con su incremento de riesgo, pero pierde la significancia en el tercer análisis.

La MMP-9 en plasma en las dos primeras comparaciones mantiene el riesgo aumentado, pero al comparar PP espontáneo con PP no espontáneo el OR es 0.69 con un IC no significativo.

Tabla 43 - Comparación OR ajustados, de MMP-9 en plasma de parto prematuro y parto prematuro espontáneo con relación a parto a término y OR ajustado, de MMP-9 en plasma de parto prematuro espontáneo con relación a parto prematuro no espontáneo.

	PP relación PA		PP espontáneo con relación PA		PP espontáneo con relación PP no espontáneo	
Edad de la madre						
<19	2.3	(0.94 – 6.27)	2.52	(0.72 – 8.80)	1.13	(0.33 – 3.92)
19 – 35	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
>35	1.55	(0.54 – 4.45)	1.78	(0.42 – 7.44)	1.07	(0.27 – 4.15)

Paridad						
1	0.99	(0.51 – 1.92)	0.89	(0.36 – 2.18)	0.75	(0.31 – 1.85)
2 – 3	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
4 o más	0.36	(0.14 – 0.92)	0.23	(0.075 – 0.73)	0.44	(0.15 – 1.27)
Hábito de fumar						
No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
Si	2.46	(1.26 – 4.79)	3.09	(1.29 – 7.39)	0.82	(0.35 – 1.91)
Antecedente parto prematuro anterior						
No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
1 parto	31.8	(15.05 – 67.25)	56.23	(21.5 – 146.7)	2.14	(0.92 – 5.00)
2 partos	12.5	(3.95 – 39.85)	20.78	(5.36 – 80.46)	2.01	(0.46 – 8.65)
Vaginosis Bacteriana						
No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
Si	0.66	(0.29 – 1.52)	1.072	(0.39 – 2.90)	2.31	(0.72 – 7.37)
ITU						
No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
Si	2.26	(0.96 – 5.31)	3.96	(1.32 – 11.90)	1.91	(0.58 – 6.22)
Longitud cervical						
>2.5cm	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
<2.5cm	2.47	(0.88 – 6.91)	4.49	(1.33 – 15.15)	3.44	(0.99 – 11.95)
MMP-9 plasma						
<63.25 pg/ml	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
>63.25 pg/ml	2.71	(1.52 – 4.83)	2.32	(1.08 – 4.96)	0.69	(0.31 – 1.55)

En la (tabla 44), podemos determinar que la edad, no presenta modificaciones en los tres análisis; la paridad al relacionar 4 partos o más el cual disminuye el riesgo de PP en las dos primeras comparaciones pierde la significación estadística en la tercera comparación; el hábito de fumar y el antecedente de PP pierden su significancia estadística en la tercera comparación; la VB presenta ORs inferiores a uno en la primera comparación, en la segunda y la tercera comparación al analizar PP espontaneo en comparación con PA y con PP no espontáneo respectivamente presenta un OR sobre 2 que aunque no es significativo, representa un cambio en la tendencia de los resultados al igual que en los análisis anteriores; la ITU mantiene sus ORs sobre uno con pérdida de significancia estadística en la tercera comparación; la longitud cervical <2.5cm se mantiene con su incremento de riesgo.

La MMP-2 en plasma en las dos últimas comparaciones mantiene el riesgo aumentado, pero al comparar PP en general con PA, el OR es 1.42 con un IC no significativo.

Tabla 44 - Comparación OR ajustados, de MMP-2 en plasma de parto prematuro y parto prematuro espontáneo con relación a parto a término y OR ajustado, de MMP-2 en plasma de parto prematuro espontáneo con relación a parto prematuro no espontáneo.

	PP relación PA		PP espontáneo con relación PA		PP espontáneo con relación PP no espontáneo	
Edad de la madre						
<19	2.23	(0.87 – 5.72)	1.95	(0.54 – 7.06)	0.96	(0.26 – 3.51)
19 – 35	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
>35	1.77	(0.60 – 5.21)	1.75	(0.39 – 7.73)	0.89	(0.22 – 3.51)
Paridad						
1	1.15	(0.59 – 2.24)	1.29	(0.52 – 3.20)	0.95	(0.37 – 2.45)
2 – 3	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
4 o más	0.40	(0.16 – 0.99)	0.26	(0.08 – 0.81)	0.34	(0.11 – 1.04)
Hábito de fumar						
No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
Si	2.20	(1.16 – 4.18)	2.80	(1.17 – 6.65)	0.81	(0.34 – 1.94)
Antecedente parto prematuro anterior						
No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
1 parto	33.01	(15.91 – 68.46)	61.71	(23.5 – 161.6)	1.96	(0.83 – 4.66)
2 partos	14.61	(4.75 – 44.94)	22.83	(6.03 – 86.33)	2.44	(0.46 – 9.27)
Vaginosis Bacteriana						
No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
Si	0.71	(0.32 – 1.59)	1.22	(0.46 – 3.23)	2.44	(0.74 – 7.95)
ITU						
No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
Si	2.32	(1.03 – 5.22)	4.58	(1.59 – 13.17)	2.02	(0.60 – 6.74)
Longitud cervical						
>2.5cm	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
<2.5cm	2.32	(1.03 – 6.41)	4.01	(1.16 – 13.78)	3.78	(1.04 – 13.71)
MMP-2 plasma						
>239.4 pg/ml	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref

<239.4 ng/ml	1.42	(0.80 – 2.53)	2.62	(1.19 – 5.78)	2.79	(1.23 – 6.35)
------------------------	------	---------------	------	---------------	------	---------------

En la (tabla 45), podemos determinar que la edad, no presenta modificaciones en los tres análisis; la paridad al relacionar 4 partos o más el cual disminuye el riesgo de PP en las dos primeras comparaciones pierde la significación estadística en la tercera comparación; el hábito de fumar y el antecedente de PP pierden su significancia estadística en la tercera comparación; la VB presenta ORs inferiores a uno en la primera comparación, en la segunda y la tercera comparación al analizar PP espontáneo en comparación con PA y con PP no espontáneo respectivamente presenta un OR sobre 1 que aunque no es significativo, representa un cambio en la tendencia de los resultados al igual que en los análisis anteriores; la ITU mantiene sus ORs sobre uno con pérdida de significancia estadística en la tercera comparación; la longitud cervical <2.5cm mantiene su incremento de riesgo solo en el segundo análisis. La MMP-9 en secreción vaginal en las dos últimas comparaciones mantiene el riesgo aumentado, pero es significativo solo al comparar PP espontáneo con no espontáneo.

Tabla 45 - Comparación OR ajustados, de MMP-9 en secreción vaginal de parto prematuro y parto prematuro espontáneo con relación a parto a término y OR ajustado, de MMP-9 en secreción vaginal de parto prematuro espontáneo con relación a parto prematuro no espontáneo.

	PP relación PA		PP espontáneo con relación PA		PP espontáneo con relación PP no espontáneo	
Edad de la madre						
<19	2.49	(0.98 – 6.35)	2.38	(0.67 – 8.37)	0.99	(0.27 – 3.57)
19 – 35	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
>35	1.73	(0.60 – 5.00)	1.97	(0.47 – 8.23)	1.05	(0.26 – 4.18)
Paridad						
1	1.01	(0.52 – 1.95)	1.06	(0.43 – 2.58)	0.91	(0.36 – 2.27)
2 – 3	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
4 o más	0.38	(0.15 – 0.96)	0.28	(0.09 – 0.89)	0.53	(0.18 – 1.56)
Hábito de fumar						

No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
Si	2.25	(1.19 – 4.28)	2.82	(1.20 – 6.64)	0.65	(0.27 – 1.59)
Antecedente parto prematuro anterior						
No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
1 parto	35.0	(16.8 – 72.9)	59.72	(23.2 – 153.2)	1.82	(0.77 – 4.30)
2 partos	14.2	(4.66 – 43.8)	22.68	(5.9 – 85.8)	1.85	(0.42 – 8.08)
Vaginosis Bacteriana						
No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
Si	0.76	(0.33 – 1.73)	1.12	(0.42 – 3.00)	1.98	(0.60 – 6.51)
ITU						
No	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
Si	2.36	(1.05 – 5.34)	3.97	(1.38 – 11.43)	1.61	(0.49 – 5.31)
Longitud cervical						
>2.5cm	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
<2.5cm	2.54	(0.90 – 7.10)	3.94	(1.18 – 13.16)	3.43	(0.96 – 12.2)
MMP-9 s. vaginal						
<145.1 pg/ml	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref	Ref
>145.1 pg/ml	0.72	(0.40 – 1.30)	1.19	(0.55 – 2.57)	2.30	(1.02 – 5.18)

6. Discusión

Vamos analizar nuestros resultados, por cada una de las variables y su relación con PP.

6.1.MMP-9 en plasma y parto prematuro

En nuestro estudio, encontramos valores elevados de MMP-9 en plasma entre las 20 a 25 semanas, en pacientes que culminaron en PP y en PP espontáneo al comparar con PA, para analizar esto, vamos primero a determinar relación entre MMP-9 en plasma, suero, membranas fetales, líquido amniótico, orina y PP.

En un estudio realizado por Goldman et al., 2003 para determinar la actividad de MMP-2 y MMP-9 , se valoró, por medio zimografía la expresión de MMP-2 y MMP-9 en decidua, corión y amnios; además de TIMP-1 por análisis de western blot, en pacientes programadas para cesárea con actividad uterina regular, de mínimo una hora, comparada con el grupo sin actividad uterina, se pudo demostrar que, las contracciones uterinas establecidas incrementan la actividad de MMP-2 en decidua acompañada por disminución de TIMP-1, además de incremento de la actividad de MMP-9 en amnios y disminución de TIMP-1; en el corión no hay cambios, a nivel de líquido amniótico se presenta incremento de los niveles de MMP-9 sobre MMP-2 con disminución de TIMP-1; esto sugiere una actividad jerárquica de las MMPs para favorecer la ruptura de membranas y evitar la separación prematura de la placenta, resultados similares a los que nosotros encontramos, con la diferencia, que nuestro análisis fue realizado en el segundo trimestre y con muestra en plasma, pero ya nos permite advertir que existe una expresión diferencial de estas MMPs.

Existen estudios con resultados variables, como el estudio de Yonemoto et al., 2006 en donde corión y amnios fueron colectado de 25 pacientes, con PP y PA, por medio de zimografía y western blot se midió la actividad de pro MMP-2 y 9, y la proteína MMP-2 y 9, encontrando que la actividad de pro MMP-2 y 9 en el amnios, pero no en el corion incremento significativamente en la labor a término, más que en la labor de PP.

En el estudio, sobre evidencia de biodisponibilidad diferencial in vivo de las formas activas de las MMP-9 y 2 en el PP, PA, ruptura espontánea de membranas e infección intraamniótica, que tuvo como objetivo, determinar las concentraciones en líquido amniótico de formas activas de MMP-2 y MMP-9, se realizó un estudio transversal con 291 mujeres en varias categorías, y concluyo que la ruptura espontánea de membranas (ya sea a término o prematuro), el parto (ya sea a término o prematuro) y la invasión microbiana de la cavidad amniótica se asociaron con, valores

elevados de la forma activa de MMP-9 y por el contrario la MMP-2 con valores disminuidos, similares a nuestros hallazgos con la diferencia que nuestro análisis fue entre 20 y 25 semanas (MAYMON et al.,2000).

En el análisis publicado en 1999, por Fortunato et al., para determinar desequilibrio MMP/TIMP en líquido amniótico durante la ruptura prematura de membranas, un total de 51 muestras de líquido amniótico, se extrajo de los siguientes grupos: Grupo 1: Mujeres con labor de PP y sin ruptura de membranas 16 pacientes, grupo 2: con ruptura prematura de membranas,16 pacientes, grupo 3: mujeres a término sin ruptura de membranas sometidas a cesárea independientemente del estado laboral 19 pacientes, mediante ELISA se analizó niveles de MMP-2 y 9, TIMP-1 y 2, los niveles activos de MMP-2, libres de TIMP se cuantificaron por zimografía; la MMP9 activa se midió usando un bioensayo que lo detecta directamente; las formas activas, libres de TIMP de MMP2 y 9 aumentan en el líquido amniótico de las mujeres con ruptura prematura de membranas, este análisis se diferenció del nuestro en la edad gestacional y el origen de las muestras.

En un estudio de Lee et al.,2016 se determinó si las citocinas y MMP en líquido amniótico, solas o en combinación con factores de riesgo clínicos, pueden predecir el PP <34 semanas en mujeres con insuficiencia cervical, para ello se diseñó una cohorte retrospectiva de 57 mujeres, entre 17 a 28 semanas de gestación con insuficiencia cervical, que fueron sometidas a amniocentesis, encontrando niveles mayores de: MMP-1, MMP-3, MMP-8, MMP-9, IL-6, IL-8, proteína inflamatoria de macrófago(MIP)-1 α y MIP-1 β en mujeres con PP <34 semanas, ellos concluyeron que un modelo que combine marcadores químicos y características clínicas mejoran la predicción de riesgo de PP en mujeres con insuficiencia cervical, este estudio difiere con el nuestro, en el tipo de pacientes ya que presentan una patología que es la insuficiencia cervical, convirtiéndolas en pacientes de alto riesgo para PP, pero coincidimos en la edad gestacional de análisis.

En un estudio de Koucky et al., 2010 para determinar la relación entre las concentraciones séricas maternas y en sangre de cordón umbilical de MMP-2,8,9 además de otros compuestos como: el receptor soluble para productos finales de glicación avanzada (sRAGE), y la IL-6; en 67 mujeres con labor de PP y en 38 mujeres embarazadas sanas con PA. El grupo con trabajo de PP se dividió adicionalmente en función de la presencia de funisitis y elevaciones de las concentraciones de IL-6 umbilical, al final se encontró, que los niveles de MMP-2 séricos en la

madre, fueron significativamente más bajos en mujeres con PP en comparación con PA, y dentro del grupo de mujeres con PP, funisitis e IL-6 elevada, los niveles de MMP-2 en suero fueron significativamente más bajos, los valores de MMP-9 fueron elevados en el PP en relación con los controles; estos resultados coinciden con los nuestros, difiere en la edad gestacional y el hecho de incluir muestra de sangre de cordón umbilical.

Se efectuó un estudio, para determinar las concentraciones MMP-9 y TIMP-1 en plasma, suero y orina, para esto fueron evaluadas 60 mujeres embarazadas; 20 de ellas se presentaron en labor de PA, 20 de ellas presentaron amenaza de PP y membranas intactas, entre 24-36 semanas de gestación y 20 de ellas fueron de 24 a 40 semanas de gestación sin contracciones, los valores de proMMP-9 fueron significativamente más altos y los valores de TIMP-1 fueron significativamente más bajos en casos con PP o PA; y en caso de contracciones prematuras que llevaron a PP en comparación con quienes las contracciones desaparecieron; sin bien no coincide con nuestro estudio en edad gestacional, podemos encontrar que de igual manera que en nuestro análisis existe elevación de MMP-9 y otro aporte importante es el hecho de que las pacientes con contracciones que no cedieron y terminaron en PP, tenían MMP-9 elevada (Makrakis,2003).

En un estudio de Trentini et al.,2016 se evaluó el efecto de administrar lactoferrina vaginal y determinar, en líquido amniótico PGE2 y el sistema MMP-TIMP en mujeres que se someten a la amniocentesis, cuatro horas antes del procedimiento; se encontró PGE2, MMP-9 activo y TMP-1 más lentos en los pacientes tratados con lactoferrina, mientras que TMP-2 no cambió, por tanto, la respuesta inflamatoria que sigue a la amniocentesis, puede ser modulada, esta conclusión del estudio permite relacionar al trauma mecánico, con una respuesta inflamatoria valorada por presencia de prostaglandinas y MMP, que podrían conducir a un PP; esto fundamenta el hecho que los procesos no infecciosos son también una causa de labor prematura y que existe relación entre prostaglandinas y MMPs.

Por otro lado, la infección bacteriana, induce inflamación con producción de citocinas proinflamatorias como la IL-1b, TNF-a, IL-6, IL-8 que inducen la secreción de MMPs como MMP-9 (ZAGA-CLAVELLINA,2006; ZAGA-CLAVELLINA,2007). Durante un proceso infeccioso las membranas fetales, la región coriodecidual constituye la principal barrera contra la progresión de la infección en la cavidad amniótica. Hay evidencia que respalde la posibilidad de que la región coriodecidual responde activamente contra patógenos y endotoxinas secretando factores proinflamatorios y colagenolíticos (ROMERO et al.,1988; GOLDENBERG; HAUTH;

ANDREWS,2000; ZAGA et al.,2004; THIEX; CHAMES; LOCH-CARUSO,2010) las infecciones intrauterinas se han asociado con trabajo de PP espontáneo, displasia broncopulmonar, síndrome de dificultad respiratoria y aborto (ROMERO et al.,1988; CLARK et al.,2004; FOERSTER et al.,2007).

Por tanto, los procesos infecciosos y no infecciosos, que pueden causar PP pueden afectar el sistema MMP a través de cinco vías: 1. Incremento de MMP-9, que resulta en ruptura prematura de membranas; 2. Incremento de MMP-3, que resulta en ruptura prematura de membranas directa o indirectamente a través de aumento de la expresión de MMP-9; 3. Incremento de MT-MMP (MMP-14) y de TIMP-2, que resulta en la activación de MMP-2 (este último conduce a ruptura prematura de membranas directa o indirectamente a través de una mayor expresión de MMP-9; 4. Producción de citocinas, que incrementan la producción de MMPs; 5. Incremento de la proteína apoptótica p53, que induce el gen MMP-2, el gen de la MMP-9 es inducido por la infección intra amniótica, la ruptura prematura de membranas, la labor de PA y PP (Makrakis,2003).

En los estudios analizados anteriormente, hemos podido determinar que la MMP-9 se encuentra elevada en distintos fluidos corporales, tejidos placentarios y membranas fetales en pacientes en labor de parto a término y prematura, ruptura prematura de membranas fetales, con o sin proceso infeccioso; esto coincide con nuestro estudio en el cual encontramos también elevación de MMP-9. Por tanto, el siguiente paso es determinar si esta alteración de la MMP-9 puede presentarse en el segundo trimestre, en pacientes que terminarán en un PP.

Un estudio multicéntrico randomizado, realizado por Sorokin et al.,2010 que incluyó 475 con riesgo incrementado para PP, se obtuvo una muestra de sangre entre las 24 y 32 semanas de gestación, para valorar en suero IL-6, MMP-9 y PCR, se identificó un mayor riesgo de PP, para pacientes con concentraciones elevadas de IL-6, PCR, pero no de MMP-9, este fue el único estudio que valora MMP-9 como predictor, publicado hasta el momento, pero solo valora pacientes de riesgo, y no tienen control, contrario a nuestro estudio en el cual tenemos MMP-9 elevada, dentro de un estudio caso control anidado en un estudio de cohorte.

Esta elevación, de la MMP-9 en el segundo trimestre, puede estar relacionada a la progesterona y su receptor, se realizó un estudio, para evidenciar el efecto inmunosupresor de progesterona tras la secreción in vitro de factores proinflamatorios y prodegradativos en un modelo de infección coriodecidual, y se encontró, que la progesterona disminuyó significativamente la secreción de TNF- α , IL-1b, IL-6, IL-8 e IL-10, y en el caso de MMP-9 está fue inhibida. La

mifepristona bloqueó el efecto inmunosupresor, lo que indica un posible mecanismo de progesterona a través de su receptor, esto ofrece evidencia que la progesterona puede proteger la unidad fetal-placentaria a través de un mecanismo compensatorio que limita parcialmente la secreción de moduladores proinflamatorios y de enzimas tipo gelatinasas (PINEDA-TORRES et al., 2015).

En un estudio, a cerca de la modulación de progesterona in vitro en la producción inducida por endotoxina bacteriana de IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-8, IL-10, MIP-1 α y MMP-9 en placenta humana previa al parto, el tratamiento con lipopolisacáridos condujo a un aumento significativo, de todas las citocinas mencionadas, el pretratamiento con progesterona redujo significativamente, la secreción de TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, MIP-1 α , IL-10; la MMP-9 inducida, se inhibió también con progesterona, pero en dosis alta; la mifepristona bloqueó el efecto inmunosupresor de la progesterona, estos resultados apoyan el hecho de que la progesterona podría limitar los efectos citotóxicos de la inflamación asociados con un proceso de infección durante la gestación (GARCIA-RUÍZ et al.,2015).

En el estudio, de Preciado-Martínez et al., 2017 se analizó el efecto de la progesterona, para suprimir la respuesta proinflamatoria inducida por los lipopolisacraidos, emulando un ambiente de infección-inflamación en células mononucleares primarias, aisladas de sangre de placenta humana de nueve mujeres sometidas a cesárea electiva a término (no en trabajo de parto), en comparación con las condiciones basales, el tratamiento con lipopolisacáridos indujo IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-8, MIP-1 α y MMP-9; el tratamiento conjunto de lipopolisacárido con progesterona disminuyó significativamente la IL-1 β inducida por endotoxina bacteriana, el TNF- α , IL-6, IL-8 y secreción de MIP-1,por lo tanto, la progesterona podría ser parte del mecanismo compensatorio natural que limita los efectos citotóxicos de una infección intrauterina durante la gestación.

Ahora porque, algunas pacientes con procesos infecciosos o no infecciosos terminan en PP y otras no, hay estudios que informan alteraciones de la expresión del gen MMP-1 y MMP-9 en términos de niveles elevados en suero, líquido amniótico, membranas fetales, fibroblastos cervicales y tapón de moco cervical en mujeres con PP comparado con mujeres con PA, los polimorfismos funcionales ubicados en las regiones promotoras MMP-1 y MMP-9 podrían ser un factor contribuyente en el PP. Hay estudios que evaluaron el papel potencial del polimorfismo del gen MMP-9-1562 C T como factor de predisposición para ruptura prematura pretérmino de

membranas en mujeres africanas, americanas, chinas y caucásicas con resultados variables (FERRAND et al.,2012; FANG et al.,2010; JONES; HOLZMAN; TIANETAL,2012).

Como podemos integrar, a la progesterona y sus receptores, los genes contráctiles y las MMPs; aunque en la mayoría de los mamíferos, el parto está asociado con una marcada disminución de la progesterona materna, en los humanos, la progesterona y los RP uterina permanecen elevados durante el embarazo, por tanto, el efecto debe estar a nivel de los RP. El parto AT y el PP en humanos y roedores están asociados con una respuesta inflamatoria, la infección intraamniótica es el estímulo para aumentar las interleucinas del líquido amniótico y la migración de células inflamatorias hacia el útero y el cuello uterino, por tanto el aumento de la respuesta inflamatoria y la activación del factor nuclear de transcripción NF-kB, favorece la contractilidad uterina a través de, activación directa de genes contráctiles: COX-2, receptor de oxitocina y conexina p43 y también por alteración de la capacidad de PR para mediar la inactividad uterina.

Para complementar e integrar el concepto anterior, es necesario comprender que durante el embarazo (figura: 34), el útero permanece en reposo, el PR actúa dependiente de ligando, incrementando la expresión del inhibidor de NF-kB que es el Ik B alfa, en las células miometriales. Alternativamente, PR actúa de manera independiente del ligando, a través de interacción directa proteína-proteína, para bloquear la activación de NF-kB. La labor de parto, puede iniciarse prematuramente por infección bacteriana, y posterior migración de macrófagos a la madre, con liberación de citoquinas que inducen producción de MMPs y activación de NF-kB, en fetos a término esto puede deberse a señales de maduración fetal, dentro del útero, el NF-kB activado aumenta la expresión de genes contráctiles y causa una alteración de la función de PR, al inducir estos genes evidentemente se incrementa la producción de prostaglandinas por acción de COX 2, aumentando por tanto la secreción de MMPs, y como resultado final PP (MENDELSON;2009).

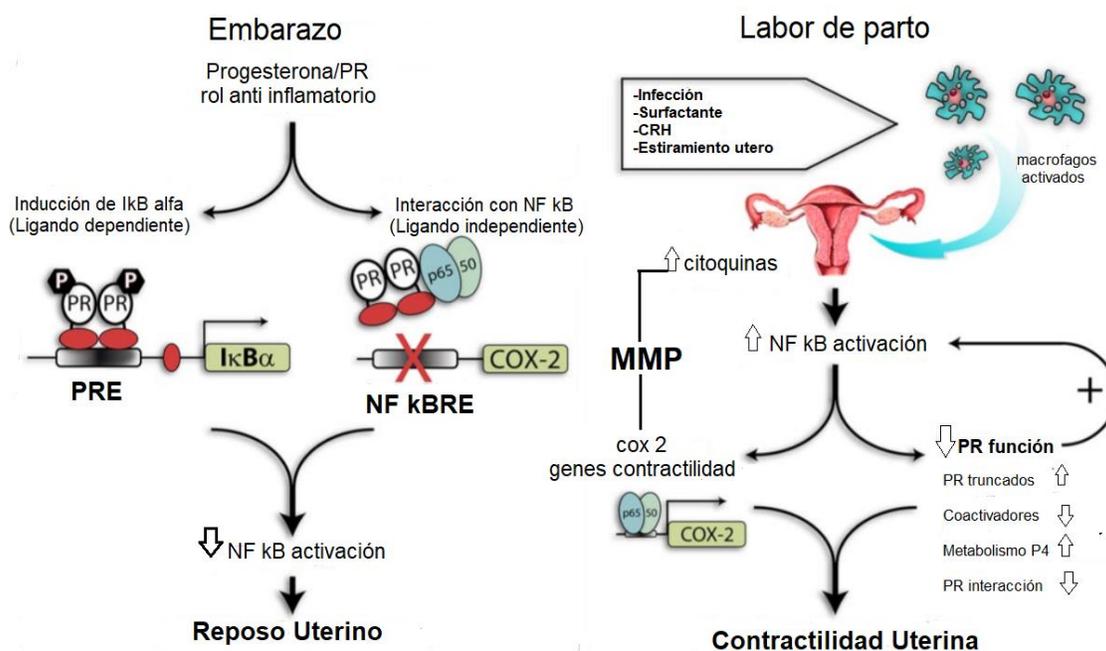


Figura 34: Mecanismos para la regulación de la progesterona/PR del reposo uterino durante el embarazo a la contractilidad uterina en el parto prematuro y parto a término. Modificado de (MENDELSON;2009).

Podemos de acuerdo a estos estudios concluir, que probablemente la disminución en la progesterona o una alteración en su receptor puede determinar la pérdida del efecto inmunosupresor de esta hormona, que podemos evidenciar por el incremento de MMP-9.

Al comparar PP espontáneo versus no espontáneo no existe diferencia, en nuestro estudio; al realizar búsqueda de evidencia, no se encontró estudios que realicen esta comparación, por tanto, podemos sugerir que esta pérdida de diferencia es debida a que las dos causas de PP infecciosas y no infecciosas, pueden determinar elevación de MMP-9.

Sin olvidar, que muchas de las pacientes, del grupo de PP no espontáneo su embarazo fue prematuro por indicación médica debido a preeclampsia, hipertensión gestacional entre otras patologías y las MMPs también están relacionadas, por esta razón la MMP-9 en plasma puede perder significancia al comparar MMP-9 en PP espontáneo y no espontáneo.

En un estudio de Palei et al., 2008 se comparó niveles de MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2, relaciones MMP-9/TIMP-1 y MMP-2/TIMP-2 en preeclampsia e hipertensión gestacional comparadas con gestantes normotensas, para ello se valoró a 83 mujeres embarazadas (30 embarazadas sin patología, 26 con hipertensión gestacional y 27 con preeclampsia) y 30

mujeres sanas no embarazadas en un estudio transversal, encontrando mayor actividad de MMP-9 (pero no MMP-2) en la hipertensión gestacional.

Las MMPs por su actividad proteolítica, favorece la invasión de trofoblasto, y una desregulación de estas enzimas se ha relacionado con preeclampsia, al inicio existe disminución de MMP-2 y MMP-9 alterando la remodelación vascular, más adelante se presenta elevación en MMP-2 y MMP-9 que induce la liberación anormal de factores vasoactivos que condicionan la hipertensión, además participan otras MMP como MMP-1 y MMP-14 (ESPINO Y SOSA et al.,2017). Estos estudios sugieren el hecho de que la MMP-9, podría no tener diferencia entre PP espontáneo y no espontáneo, ya que muchas de las indicaciones médicas de terminación prematura de la gestación fueron por patología hipertensiva, que también puede alterar esta MMP.

6.2.MMP- 9 en secreción vaginal y parto prematuro

En nuestro estudio, no hubo diferencia en los valores de MMP-9 en secreción vaginal en pacientes que culminaron en PP, y tampoco en el subgrupo de PP espontáneo, al comparar con PA; no se logró encontrar evidencia en la literatura, que valore esta comparación.

En el grupo de PP espontáneo, se encontró valores elevados de MMP-9 en secreción vaginal en comparación con PP no espontáneo; este hallazgo fue similar al estudio caso-control de Reyna-Villasmil et al., 2017 con 613 pacientes gestantes, que realizó una medición de MMP-9 en secreción cérvico vaginal, entre 24 y 28 semanas para determinar relación con PP, encontrándose niveles elevados de MMP-9 en pacientes que terminaron en PP, pero no es útil para predicción pues tiene un valor bajo la curva de 0.59, especificidad: 41.1%, sensibilidad 75%: VPP:10.5%, VPN: 94.6% .

En un estudio de Becher et al. en 2010, encontró que las pacientes que terminaron en PP, presentaron valores elevados de MMP-9, pese a que este estudio tomo muestras de moco cervical distal y nosotros usamos secreción vaginal. Podemos concluir, que la elevación de MMP-9 en secreción vaginal, representa una inducción en la producción de esta enzima, que sigue los mismos fundamentos que la MMP-9 analizada a nivel de plasma, es decir existe una predisposición genética, que determina un menor efecto inmunosupresivo del receptor de progesterona, que favorece la respuesta inflamatoria y el PP, con elevación de MMP-9 que es inducible.

6.3.MMP-2 en plasma y parto prematuro

En nuestro estudio, encontramos valores bajos de MMP-2 en plasma en pacientes que culminaron en PP, y también en el subgrupo de PP espontáneo, al comparar con PA. En PP espontáneo, se encontró valores inferiores de MMP-2 en plasma en comparación con PP no espontáneo.

El primer análisis, está encaminado a determinar los estudios que encuentran valores bajos de MMP-2 en varios fluidos corporales en relación con PP, para posteriormente tratar de buscar estudios de esta enzima en segundo trimestre como predictor de la patología.

Niveles de MMP-2 han sido valorados en varios fluidos, en orina por ejemplo conjuntamente con TIMP-2, en pacientes de PP, pacientes con amenaza de PP, pacientes con PA y pacientes entre 26 y 36 semanas sin labor de parto, y no se encontró ninguna diferencia (LEMANCZEWICZ,2007).

En un estudio, de Maymon et al.,2000 ya analizado anteriormente, sobre evidencia de biodisponibilidad diferencial in vivo de las formas activas de las MMP-9 y 2 en el PP, PA, ruptura espontánea de membranas e infección intraamniótica, que tuvo como objetivo, determinar las concentraciones en líquido amniótico de formas activas de MMP-2 y MMP-9, se realizó un estudio transversal con 291 mujeres en varias categorías, y concluyo que la ruptura espontánea de membranas (ya sea a término o prematuro), el parto (ya sea a término o prematuro) y la invasión microbiana de la cavidad amniótica se asociaron con, valores elevados de las formas activas de MMP-9 y la MMP-2 por el contrario con valores disminuidos, similar a nuestros hallazgos en plasma, con la diferencia que nuestro estudio el análisis fue en segundo trimestre.

En el estudio de Koucky et al., 2010 ya analizado anteriormente, para determinar la relación entre la concentración sérica materna y en sangre de cordón umbilical de MMP-2,8,9 además de otros compuestos, se encontró, que los niveles de MMP-2 séricos en la madre, fueron significativamente más bajos en mujeres con PP y dentro del grupo de mujeres con PP, funisitis e IL-6 elevada, con valores en sangre similares a los nuestros.

En el año 2002, Xu et al, realizo un estudio para determinar MMP-2 y 9 en membranas fetales y placenta,, encontrando que MMP-9 se encuentra elevada en los casos de PP y PA, al comparar con los pacientes sin labor de parto, tanto en membranas fetales como en placenta; la MMP-2 no tuvo diferencia significativa entre PP Y PA, sin embargo al revisar encontramos valores

inferiores de MMP-2 en PP Y PA al comparar con pacientes sin labor de parto. Por medio de inmuno localización se pudo encontrar un patrón específico de distribución, MMP-2 se encuentra en el mesénquima amniótico, corion liso, decidua parietal y en vasos sanguíneos de vellosidades placentarias, MMP-9 fue localizada principalmente en epitelio amniótico, corión liso, decidua parietal y sincitiotrofoblasto, para complementar se encontró que el sincitiotrofoblasto y las células epiteliales amnióticas producen solo MMP-9, el corión secreta ambas MMPs y las células del amnios mesenquimal produce solo MMP-2.

No se encontró estudios, que utilicen el análisis de MMP-2 en plasma, como predictor de PP; lo que encontramos son valores inferiores de MMP-2 en pacientes con PP, en contraposición a los valores elevados de MMP-9, y nuestro siguiente paso es tratar de encontrar una explicación a este hallazgo.

Aunque las dos enzimas son gelatinasas, tiene distinción genómica y de mecanismos reguladores, la MMP-9 es inducible, mientras que MMP-2 es constitutiva. Las citoquinas proinflamatorias y las proteasas bacterianas son capaces de inducir ARN mensajero, para sintetizar y secretar MMP-9 (BIRKEDAL-HANSEN et al.,1993; WOESSNER,1994).

Estos valores contrapuestos de las MMP-2 y 9 pueden representar, un auto control para evitar daños, por la actividad colagenolítica excesiva. Un incremento apropiado de la MMPs puede ser importante durante el embarazo para facilitar la respuesta del huésped en contra de infecciones, por otro lado, la actividad gelatinolítica excesiva y no controlada puede ser nociva.

Por lo tanto, la MMP-2 pueden haber surgido como enzima constitutiva que participa en la remodelación del tejido normal y la MMP-9 como enzima inducible para la cual se realiza la transcripción, regulada por factores que participan en la inflamación e infección.

La fibra muscular miometrial, sin contracción es mantenida por la progesterona producida en la placenta, sumada a la CRH, una caída en los niveles de progesterona o una alteración en su receptor podría alterar este equilibrio (GRAMMATOPOULOS,2007; MENDELSON,2009), por tanto, valores bajos de MMP-2 podrían estar relacionados a progesterona.

En células de coriocarcinoma, se encontró que la progesterona reduce el receptor PR y la unión de SP4 al promotor MMP-2, suprimiendo así la transcripción, además la progesterona favorece la degradación del factor de transcripción SP4. Estos mecanismos novedosos de regulación de MMP-2 por progesterona proporcionan el fundamento biológico para el uso de

progesterona en entornos clínicos asociados con una mayor expresión de MMP-2 (GOLDMAN; LOVETT; SHALEV,2009).

En el estudio de Goldman et al., 2007 que tuvo como objetivo explorar el efecto de la progesterona en la expresión de gelatinasa en las membranas corio amnióticas y la decidua, antes y después de las contracciones; encontramos que la progesterona disminuyó la secreción de MMP2 en decidua, antes de que iniciaran las contracciones; la progesterona no pudo inhibir la expresión de MMP2 en el amnios y corion antes de que inicien las contracciones; después del inicio de contracciones, la progesterona no pudo inhibir la expresión de MMP2 tanto en decidua como en membranas fetales, esto en embarazo a término; esto nos permite entender que la progesterona ejerce efecto sobre MMP-2, dependiendo de las condiciones fisiológicas y patológicas.

En el estudio de Tan et al.,2012 se utilizó células miometriales inmortalizadas, encontrando que, durante el embarazo humano, cuando las células miometriales son dominantes de PR-B, la progesterona promueve la quietud miometrial a través de la mediación de acciones antiinflamatorias; por tanto en la labor de parto, el aumento en la expresión de PR-A promueve el parto al inhibir las acciones antiinflamatorias de PR-B y estimular la expresión de genes proinflamatorios en respuesta a la progesterona.

En el PP puede verse alterado el PR, por efecto del factor nuclear de transcripción NF-kB, la expresión alterada de los reguladores de PR, metabolismo incrementado de la progesterona dentro del cuello uterino y el miometrio, y la producción de isoformas inhibitoras de PR, que pueden terminar en labor de parto y en PP (MENDELSON;2009).

En un estudio de Caritis et al.,2018 se evalúa el impacto del antecedente de PP y el tratamiento con caproato de 17-hidroxi progesterona, en las citocinas del fluido cervical y las MMP, la muestra fue de moco cervical, se obtuvo entre 16 - 25 semanas de mujeres con PA , mujeres con uno o más PP anteriores que optaron por recibir el tratamiento o no lo aceptaron, se encontró diferencia significativa en los valores de MMP-2 que fueron mucho menores en pacientes que no recibieron la medicación, en comparación con quienes se administraron caproato de 17-hidroxi progesterona, indirectamente podemos asociar por tanto que MMP-2 es baja en pacientes de riesgo de PP y que la progesterona eleva el nivel de MMP-2. Podemos por tanto concluir, que la MMP-2 es baja, porque se contrapone a los valores elevados de MMP-9, para limitar la actividad colagenolítica excesiva, en las pacientes de riesgo para PP.

6.4.MMP-2 en secreción vaginal y parto prematuro

En nuestro estudio, no se encontró diferencia en los valores de MMP- 2 en secreción vaginal entre PP, PP espontáneo y PA, de igual manera al comparar PP espontáneo con el grupo de PP no espontáneo.

En un estudio de Becher et al. en 2010, valoraron el moco cervical de la porción distal, en mujeres no gestantes, en gestación temprana, y en mujeres con embarazo a término, posteriormente en la labor de PA y PP; la MMP-2 no fue detectada en mujeres no gestantes , en el embarazo temprano existió altas concentraciones que disminuyeron, más del 80% al término, esto puede determinar que la MMP-2 en moco cervical refleja un remodelamiento cervical no leucocito dependiente; las MMP-8 y 9 puede estar relacionadas en la defensa de las infecciones ascendentes, primariamente localizadas en el compartimento distal del moco cervical, de tal manera que la MMP-9 se encontró aumentada en 2 a 5 veces en PP, estos resultados difieren de nuestro estudio en lo referente a la MMP-2, pero coinciden con nuestros hallazgos de MMP-9 en PP espontáneo versus no espontáneo.

En un estudio realizado en 35 mujeres entre 18 y 24 semanas de gestación se valoró longitud cervical por ecografía, ácido láctico por colorimetría y MMP-2 por ELISA en fluido vaginal, encontrándose un incremento de MMP-2 relacionado con disminución de la longitud cervical y los valores de ácido láctico, los niveles de MMP-2 y ácido láctico no tuvo relación con la edad gestacional, de igual manera la longitud cervical con la edad, la paridad, antecedente de aborto y sludge en la cavidad amniótica(FERNANDES et al.,2017). Por tanto, al encontrarse resultados contradictorios, hace falta realizar más estudios para determinar la verdadera relación.

6.5.Edad materna y parto prematuro

En nuestro estudio encontramos mayor riesgo de PP, PP espontáneo en las pacientes menores de 19 años y mayores de 35 pero con valores sin significancia estadística.

La literatura reporta, mayor riesgo de PP en grupos abajo de 19 años y encima de 35 años (GRAVENA et al, 2013). En nuestro estudio ni el OR bruto, ni el OR ajustado presentaron significancia estadística. En conclusión, los extremos de la vida reproductiva son un riesgo para PP.

6.6.Paridad de la madre y parto prematuro

En nuestro estudio en las pacientes con 4 partos o más disminuyo el riesgo de PP y PP espontáneo en comparación con PA, al comparar PP espontáneo y no espontáneo se pierde esta diferencia, esto se encuentra en el análisis de OR ajustado; en el OR bruto no se encuentra ninguna diferencia, en esta variable la referencia fue tener 2 o 3 hijos; en el estudio de Bezerra et al, 2006, no encontró relación entre paridad y prematuridad. En conclusión, la paridad no es un factor de riesgo de PP, por el contrario, el tener más hijos podría disminuir este riesgo.

6.7.Hábito de fumar y parto prematuro

En nuestro estudio el hábito de fumar incremento el riesgo de PP y PP espontáneo en comparación con PA, al comparar, PP espontáneo y no espontáneo se pierde esta diferencia.

Las pacientes fumadoras, presentaron un OR bruto semejante a la evidencia, de acuerdo a Grantz et al., 2015 que presento un RR de 1,95 con IC (95%): 1,53- 2,49, estadísticamente significativo.

En un estudio de Wong et al., 2016, se analizó los factores de riesgo asociados a PP, luego de haber tenido un PA anterior, se valoró en un estudio caso control, con 1353 casos y 34630 controles, ambos grupos fueron similares en cuanto a etnia, edad y como resultado se encontró un riesgo incrementado de PP en pacientes que consumen tabaco, o tienen un intervalo de embarazo menor a 18 meses.

En pacientes con cérvix corto, que además fuman más de 15 unidades por día el riesgo de PP, se duplico, de acuerdo al estudio de cohorte retrospectivo de Findley et al.,2015.

En un estudio ecológico, realizado en los países europeos para determinar el efecto de las políticas sobre el uso del tabaco, al limitarlo en el trabajo y plazas se encontró una disminución significativa en PP antes de las 37 y 32 semanas, conjuntamente con el bajo peso al nacer menor a 2500gr (DÍEZ-IZQUIERDO et al.,2017). En conclusión, el tabaco es una causa comprobada de PP y PP espontáneo.

6.8. Longitud cervical menor de 2.5 cm y parto prematuro

En nuestro estudio la longitud de cérvix menor de 2.5cm incrementa el riesgo de PP y PP espontáneo en comparación con PA. Pierde significación estadística la longitud cervical al comparar MMP-9 en secreción vaginal, entre PP espontáneo y no espontáneo.

En un estudio observacional, prospectivo y multicéntrico de Celik et al., 2008, valoraron la longitud de cuello de útero, en 58.807 gestantes entre 20 e 25 semanas de embarazo, entre 1998 a 2006; encontrando incremento de riesgo de PP, cuando el cuello uterino es menor a 2.6cm, RR de 1.05 para PP < 28 semanas; 1.93, entre 28 e 30 semanas; 1.95, entre 31 e 33 semanas e 1.44, entre 34 e 36 semanas.

El cérvix con una longitud menor a 2.5cm, fue demostrado como un factor de riesgo para PP, cuando se realiza ultrasonido vía vaginal entre las 18 a 25 semanas, por tanto, justifica su realización en pacientes de bajo y alto riesgo (ORZECOWSKI; BOELIG; BERGHELLA; 2016). En conclusión, la longitud cervical, valorada en segundo trimestre está relacionada con PP.

6.9. Antecedente de parto prematuro y parto prematuro

En nuestro estudio, el antecedente de PP, es un factor de riesgo para PP y PP espontáneo comparado con PA, tanto en el OR bruto y ajustado, aunque con IC amplios, pero pierde significancia al comparar PP espontáneo y no espontáneo.

La historia de PP previo es un importante predictor en las próximas gestaciones, ya confirmado por Esplin et al, 2008, en nuestro estudio este riesgo fue elevado para uno o dos PP anteriores. La pérdida de significancia en la última comparación, probablemente se deba a que el antecedente de PP afecta por igual a ambos grupos, no se encontró estudios de esta comparación. En conclusión, el antecedente de PP es un fuerte predictor de esta patología.

6.10. Vaginosis bacteriana y parto prematuro

En nuestro estudio la VB, tiene OR menor de 1 al comparar PP con PA, pero el OR se hace positivo al comparar PP espontáneo con PP no espontáneo y con PA, pero en ningún caso con significancia estadística.

En una revisión sistemática realizada por Haar et al.,2016 en la cual se analizó el resultado de los estudios publicados, desde 1999 al 2014 no encontró significancia en reducción del riesgo de PP al tratar a las pacientes diagnosticadas de VB, en grupos de bajo y alto riesgo, antes o después de las 20 semanas.

En un estudio de Brabant en 2016, para determinar si la VB es un factor de riesgo para PP espontáneo y si el tratamiento de esta patología disminuye el riesgo, se encontró que el tamizaje y tratamiento de VB durante la gestación, en población asintomática de bajo riesgo no es recomendada; y en la población de alto riesgo, con el simple conocimiento de antecedente PP, el tamizaje y tratamiento de la patología tampoco está recomendado.

Un meta-análisis de Leitch, et al. 2007, determinó un aumento significativo de PP en pacientes con VB, sintomáticas o asintomáticas, diagnosticadas a partir de criterios clínicos o gram, con diferentes edades de gestación, en 30.518 pacientes de 32 estudios, la VB incremento el riesgo de PP (OR: 2,16, IC 95%: 1,56-3,00).

Un estudio de Carvalho et al, 2001, involucró 611 gestantes, presentando incremento en el riesgo de PP en pacientes con VB, 9.7% de estas pacientes evolucionaran a PP, con diferencia estadísticamente significativa en relación a quienes no tienen la patología. De acuerdo al estudio de Klebanoff et al, 2005 no se encontró evidencia de incremento en el riesgo de PP en pacientes con VB asintomática.

Cuando la VB es diagnosticada y tratada antes de las 20 semanas, no disminuye el riesgo de PP, pese a que la patología es eliminada, según el estudio de Brocklehurst et al, 2013 que incluyó 21 ensayos clínicos randomizados que comparaban: el tratamiento antibiótico con placebo; en mujeres grávidas con VB o flora vaginal intermedia, sintomáticas o asintomáticas, con 7847 embarazadas, ellos encontraron eliminación de la patología en 80% de los casos(RR 0.20; IC 95% 0.05-0.76;), pero sin reducción significativamente en el riesgo de PP (RR: 0.88; IC 95% 0.71-1.09).

Varios investigadores han encontrado que ciertos polimorfismos génicos hacen a las pacientes más susceptibles a VB, que es un factor de riesgo para infección intra amniótica y PP (GOMEZ et al.,2010). En conclusión, la VB incrementa el riesgo de PP, y su tratamiento no lo disminuye, nosotros encontramos incremento del riesgo, pero sin significancia estadística al comparar parto PP espontáneo y no espontáneo, probablemente por una respuesta genéticamente distinta a la VB.

6.11. Infección de tracto urinario y parto prematuro

En nuestro estudio la ITU, incrementa el riesgo de PP espontaneo al comparar con PA, al relacionar PP espontaneo con PP no espontáneo hay aumento del riesgo del primero, pero sin significancia estadística; al comparar PP con PA no hay diferencia al obtener el OR crudo, al realizar ajuste el OR se torna significativo al analizar MMP-2 en plasma y MMP-9 en secreción vaginal.

El estudio de Sheiner et al, 2009, con más de 100000 pacientes 2,5%, presentaron bacteriuria asintomática, de ellos el 13,3% tuvieron PP en relación al 7,6% de las pacientes sin la patología (OR 1.9 IC 95% 1,7 – 2.0).

Un estudio metanalítico de Romero et al, 1989 que valoró estudios de cohorte, encontró que la bacteriuria asintomática incrementa el riesgo de PP y bajo peso al nacer. En conclusión, la bacteriuria asintomática es un factor de riesgo para PP espontáneo.

Otras MMPs también están relacionadas con PP y se las utiliza como predictores, se realizó un meta análisis para determinar el valor de los niveles de IL-6, MMP-8 y glucosa en el líquido amniótico, en el primero segundo trimestre y valorar si se presenta PP, se incluyeron en el metaanálisis un total de 675 pacientes que tuvieron un PP y 2518 pacientes que tuvieron un PA, los niveles de IL-6, MMP-8 se encontraron elevados y glucosa disminuida en los pacientes que tuvieron un PP (LIU et al.,2016).

Por tanto, la predicción de PP, como lo vimos en el árbol de inferencia condicional debe realizarse utilizando antecedentes como los PP anteriores y hábitos de la paciente como el tabaquismo, sumados a criterios ecográficos como la longitud cervical <2.5cm y un marcador bioquímico que pueden ser las MMP-2 y 9 en plasma, que permiten un acceso más simple que la vía vaginal.

7. Conclusiones

Los datos obtenidos y analizados con los métodos propuestos, nos permiten obtener las siguientes conclusiones.

- Niveles superiores al valor de corte de MMP-9 en plasma, está relacionado con parto prematuro.
- Niveles inferiores al valor de corte de MMP-2 en plasma está relacionado con parto prematuro.
- Niveles superiores al valor de corte de MMP-9 en plasma, está relacionado con parto prematuro espontaneo.
- Niveles inferiores al valor de corte de MMP-2 en plasma está relacionado con parto prematuro espontáneo.
- Niveles superiores al valor de corte de MMP-9 en secreción vaginal están relacionados con PP espontáneo al ser comparado con parto prematuro no espontaneo.
- El antecedente de parto prematuro anterior, el hábito de fumar, la ITU, la longitud de cuello de útero $< 2.5\text{cm}$ incrementa el riesgo de parto prematuro y parto prematuro espontáneo.
- Las MMP-2 y 9 por sí solas no pueden utilizarse como test predictivo para parto prematuro.



8. Referencias Bibliográficas

* Modelo de referencias de acuerdo con: International Committee of Medical Journal Editors (Vancouver Style) – Grupo Vancouver.

American College of Obstetricians and Gynecologists. Management of Preterm Labor. Practice Bulletin No. 171. *Obstet Gynecol.* 2016;128(4):e155–164.

Aimes RT, Quigley JP. Matrix metalloproteinase-2 is an interstitial collagenase: inhibitor-free enzyme catalyzes the cleavage of collagen fibrils and soluble native type I collagen generating the specific 3/4- and 1/4-length fragments. *J Biol Chem.* 1995;270:5872–5876.

Allan JA, Docherty AJ, Barker PJ, Huskisson NS, Reynolds JJ, Murphy G. Binding of gelatinases A and B to type-I collagen and other matrix components. *Biochem J.* 1995;309:299–306.

Arechavaleta-Velasco F, Ogando D, Parry S, Vadillo-Ortega F. Production of matrix metalloproteinase-9 in lipopolysaccharidestimulated human amnion occurs through an autocrine and paracrine proinflammatory cytokine-dependent system. *Biol Reprod.* 2002;67: 1952–1958.

Barbieri MA, Bettiol, H, Silva AA, Goldani MZ. Papers from the Ribeirão Preto and São Luís birth cohort studies: presentation. *Braz J Med Biol Res.* 2007;8(9):1163-1164.

Becher N, Hein M, Danielsen CC, Ulbjerg N. Matrix metalloproteinases in the cervical mucus plug in relation to gestational age, plug compartment, and preterm labor. *Reproductive Biology and Endocrinology.* 2010;113(8):2-9.

Beck S, Wojdyla D, Say L, Betran AP, Merialdi M, Harris J, Rubens C, Menon R, Van Look P. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bull World Health Organ.* 2010;88:31–38.

Benedetto C, Petraglia F, Marozio L, et al. Corticotropin-releasing hormone increases prostaglandin F2 alpha activity on human myometrium in vitro. *Am J Obstet Gynecol.* 1994;171:126–131.

Bezerra LC, Oliveira SM, Latorre DO. Prevalência e fatores associados à prematuridade entre gestantes submetidas à inibição de trabalho de parto prematuro. *Revista Brasileira Materno Infantil*. 2006;6(2):113-119.

Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK, Windsor LJ, Birkedal-Hansen B, DeCarlo A, et al. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1993;4:197-250.

Bode W, Fernandez-Catalan C, Tschesche H, Grams F, Nagase H, Maskos K. Structural properties of matrix metalloproteinases. *Cell Mol Life Sci*. 1999;55:639–652.

Brabant G. Bacterial vaginosis and spontaneous preterm birth. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*. 2016;45:1247-1260.

Brocklehurst P, Gordom A, Heatley E, Milan SJ. Antibiotics for treating bacterial vaginosis in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013; CD000262

Bryant-Greenwood G. The extracellular matrix of the human fetal membranes: structure and function. *Placenta*. 1998;19:1–11.

Bukowski R, Gahn D, Denning J, Saade G. Impairment of growth in fetuses destined to delivery preterm. *Am J Obstet Gynecol*. 2001;185:463-467.

Capece A, Vasieva O, Meher S, Alfirevic Z, Alfirevic A. Pathway Analysis of Genetic Factors Associated with Spontaneous Preterm Birth and Pre-Labor Preterm Rupture of Membranes. *PLoS ONE*. 2014; 9(9): e108578.

Caritis SN, Hankins G, Hebert M, Haas DM, Ahmed M, Simhan H, Haneline LA, Harris J, Chang J, Stephenson A, Yorio P, Ren Z, D'Alton ME, Venkataramanan R. Impact of Pregnancy History and 17-Hydroxyprogesterone Caproate on Cervical Cytokines and Matrix Metalloproteinases. *American Journal of Perinatology*. 2018;35(5):470-480.

Carvajal JA, Buhimschi IA, Thompson LP, et al. Chorion releases a factor that inhibits oxytocin-stimulated myometrial contractility in the pregnant guinea pig. *Hum Reprod.* 2001;16:638–643.

Carvalho MH, Bittar RE, Maganha PA, Pereira SV, Zugaib M. Associação da vaginose bacteriana com o parto prematuro espontâneo. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2001;23(8):529-533.

Celik E, To M, Gajewska K, Smith GC, Nicolaides KH. Fetal Medicine Foundation Second Trimester Screening Group. Cervical length and obstetric history predict spontaneous preterm birth: development and validation of a model to provide individualized risk assessment. *Ultrasound Obstetric and Gynecology.* 2008;31(5):549-554.

Challis JR, Lye SJ, Gibb W, et al. Understanding preterm labor. *Ann N Y Acad Sci.* 2001;943:225–234.

Challis JR, Smith SK. Fetal endocrine signals and preterm labor. *Biol Neonate.* 2001;79:163–167.

Choi SJ, Oh SY, Kim JH, Roh CR. Changes of nuclear factor kappa B (NF- κ B), cyclooxygenase-2 (COX-2) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in human myometrium before and during term labor. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* 2007;132(2):182-188.

Clark DA, Foerster K, Fung L, He W, Lee L, Mendicino M, et al. The fgl2 prothrombinase/fibrinolytic gene is required for lipopolysaccharide triggered abortions and for normal mouse reproduction. *Mol Hum Reprod.* 2004;10:99–108.

Defawe OD, Kenagy RD, Choi C, Wan SY, Deroanne C, Nusgens B, Sakalihan N, Colige A, Clowes AW. MMP 9 regulates both positively and negatively collagen gel contraction: A nonproteolytic function of MMP9. *Cardiovascular Research.* 2005;66:402–409.

Díez-Izquierdo A, Balaguer A, Lidón-Moyano C, Martín-Sánchez JC, Galánc I, Fernández E, Martínez-Sánchez JM. Correlation between tobacco control policies and preterm births and low birth weight in Europe. *Enviaroment Research*. 2017.

Elovitz MA, Saunders T, Ascher-Landsberg J, et al. Effects of thrombin on myometrial contractions in vitro and in vivo. *Am J Obstet Gynecol*. 2000;183:799–804.

Elshire RJ, Glaubitz JC, Sun Q, Poland JA, Kawamoto K, et al. A Robust, Simple Genotyping-by-Sequencing (GBS) Approach for High Diversity Species. *PLoS ONE*. 2011;6(5): e19379.

Espino y Sosa S, Flores-Pliego A, Espejel-Nuñez A, Medina-Bastidas D, Vadillo-Ortega F, Zaga-Clavellina V, Estrada-Gutierrez G. New Insights into the Role of Matrix Metalloproteinases in Preeclampsia. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18:2-10.

Esplin MS. Overview of Spontaneous Preterm Birth: A Complex and Multifactorial Phenotype. *Clinical Obstetrics and Gyneacology*. 2014;57(3):518–530.

Esplin MS, O'brien E, Fraser A, Kerber RA, Clark E, Simonsen SE, Holmgren C, Mineau GP, Varner MW. Estimating recurrence of spontaneous preterm delivery. *Obstet Gynecol*. 2008;112(3):516-523.

Fang X, Li H, Diao Y, et al. Polymorphisms in the MTHRF, VDR, MMP-9andIL- β genes and the risk of premature rupture of membranas. *Gynecologic and Obstetric Investigation*. 2010;70(3):206–214.

Fernandes Moron A, Leizer J, Minis E, Hatanaka A, Santucci M,Sarmento S, Mattar R, Bongiovanni AM, Sabino E, Vicira Rudge M, Segurado A, Linhares IM, Witkin SS. D-lactic Acid and Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2) levels in vaginal secretions predict cervical lenght in mid-trimester pregnant women. *American Journal Obstetrics and Gynecology*. 2017;385:s231-323.

Ferrand PE, Parry S, Sammel M, et al. A polymorphism in the matrix metalloproteinase-9 promoter is associated with increased risk of preterm premature rupture of membranes in African Americans. *Molecular Human Reproduction*. 2012;8(5):494–501.

Findley J, Seybold DJ, Broce M, Yadav D, Calhoun BC. Transvaginal cervical length and tobacco use in appalachian women: association with increased risk for spontaneous preterm birth. *W V Med J*. 2015;111(3):22–28.

Foerster K, He W, Manuel J, Bartczak A, Liu M, Markert UR, et al. LPS-induced occult loss in mice requires FGL2. *Am J Reprod Immunol*. 2007;58:524–529.

Fortunato SJ, Menon R, Lombardi SL. MMP/TIMP imbalance in amniotic fluid during PROM: an indirect support for endogenous pathway to membrane rupture. *J Perinat Med*. 1999;27:362–368.

Frey HA, Klevanoff MA. The epidemiology, etiology, and costs of preterm birth. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*. 2016;1-6.

Garcia-Ruíz G, Flores-Espinosa P, Preciado-Martínez E, Bermejo-Martínez L, Espejel-Nuñez A, Estrada-Gutierrez G, Maida-Claros R, Flores-Pliego A, Zaga-Clavellina V. In vitro progesterone modulation on bacterial endotoxin-induced production of IL-1 β , TNF α , IL-6, IL-8, IL-10, MIP-1 α , and MMP-9 in pre-labor human term placenta. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2015;13(115):2-12.

Gibb W, Challis JR. Mechanisms of term and preterm birth. *J Obstet Gynecol Can*. 2002;24: 874–883.

Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet*. 2008;371:75–84.

Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med*. 2000;342:1500–1507.

Goldman S, Lovett DH, Shalev E. Mechanisms of matrix metalloproteinase-2 (mmp-2) transcriptional repression by progesterone in jar choriocarcinoma cells. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2009;7(41):1-12.

Goldman S, Weiss A, Eyali V, Shalev E. Differential activity of the gelatinases (matrix metalloproteinases 2 and 9 in the fetal membranes and decidua, associated with labour. *Mol Hum Reprod*. 2003;9: 367–373.

Goldman S, Weiss A, Shalev E. The effect of progesterone on gelatinase expression in the decidua and fetal membranes before and after contractions. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. 2007;197:521.e1–7.

Gomez LM, Sammel MD, Appleby DH, et al. Evidence of a gene-environment interaction that predisposes to spontaneous preterm birth: a role for asymptomatic bacteria lvaginosis and DNAvariants in genes that control the inflammatory response. *Am J Obstet Gynecol*. 2010;202:386 e1–386 e6.

Gonzalez JM, Dong Z, Romero R, Girardi G (2011) Cervical Remodeling/Ripening at Term and Preterm Delivery: The Same Mechanism Initiated by Different Mediators and Different Effector Cells. *PLoS ONE*. 2011;6(11):e26877.

Gonzalez JM, Romero R, Girardi G. Comparison of the mechanisms responsible for cervical remodeling in preterm and term labor. *Journal of Reproductive Immunology*. 2013;97:112–119.

Grammatopoulos DK. The role of CRH receptors and their agonists in myometrial contractility and quiescence during pregnancy and labor. *Front Biosci*. 2007;12:561–571.

Grantz KL, Hinkle SN, Mendola P, Sjaarda LA, Leisher K, Albert PS. Differences in risk factors for recurrent versus incident preterm delivery. *American Journal Epidemiology*. 2015;182(2):157-167.

Gravena AF, Paula MG, Marcon SS, Carvalho MD, Peloso SM. Idade materna e fatores associados a resultados perinatais. *Acta Paul Enferm.* 2013;26(2):130-135.

Gronski TJ Jr, Martin RL, Kobayashi DK, Walsh BC, Holman MC, Huber M, Van Wart HE, Shapiro SD. Hydrolysis of a broad spectrum of extracellular matrix proteins by human macrophage elastase. *J Biol Chem.* 1997;272:12189–12194.

Haahr T, Ersbøll AS, Karlsen MA, Svare J, Sneider K, Hee L, et al. Treatment of bacterial vaginosis in pregnancy in order to reduce the risk of spontaneous preterm delivery – a clinical recommendation. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2016.

Hernández-Guerrero C, Monzón-Bordonaba F, Jiménez-Zamudio L, et al. In vitro secretion of proinflammatory cytokines by human amniochorion carrying hyper-responsive gene polymorphisms of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta. *Mol Hum Reprod.* 2003;9:625–629.

Honest H, Bachmann LM, Knox EM, Gupta J K, Kleijnen J, Khan KS. The accuracy of various tests for bacterial vaginosis in predicting preterm birth: a systematic review. *An International Journal of Obstetrics and Gynaecology.* 2004;111(5):409-422.

Hothorn T, Zeileis A. A Modular Toolkit for Recursive Partytioning in R. *Journal of Machine Learning Research.* 2015;16:3905-3909.

Itoh T, Ikeda T, Gomi H, Nakao S, Suzuki T, Itohara S. Unaltered secretion of β -amyloid precursor protein in gelatinase A (matrix metalloproteinase 2)-deficient mice. *J Biol Chem.* 1997;272:22389–22392.

Jones NM, Holzman C, Tianetal Y. Innateimmunesystem gene polymorphisms in maternal and child genotype and risk of preterm delivery. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine.* 2012;25(3):240–247.

Kastner P, Krust A, Turcotte B, et al. Two distinct estrogen-regulated promoters generate transcripts encoding the two functionally different human progesterone receptor forms A and B. *Embo J* 1990;9:1603–1614.

Kim CJ, Romero R, Kusanovic JP, Yoo W, Dong Z, Topping V, Gotsch F, Yoon BH, Chi JG, Kim JS. The frequency, clinical significance, and pathological features of chronic chorioamnionitis: a lesion associated with spontaneous preterm birth. *Mod Pathol*. 2010;23(7):1000-11.

Klebanoff MA, Hillier SL, Nugent RP, Macpherson CA, Hauth JC, Carey JC. et al. Is bacterial vaginosis a stronger risk factor for preterm birth when it diagnosed earlier in gestation? *American Journal Obstetric and Gynecology*. 2005;192(2):470-477.

Koucky M, Germanova A, Kalousova M, Hill M, Cindrova-Davies T, Parizek A, Svarcova J, Zima T, Hajek Z. Low maternal serum matrix metalloproteinase (MMP)-2 concentrations are associated with preterm labor and fetal inflammatory response. *Journal of Perinatal Medicine*. 2010;38:589-596.

Kobayashi T, Kim H, Liu X, Sugiura H, Kohyama T, Fang Q, Wen FQ, Abe S, Wang X, Atkinson JJ, Shipley JM, Senior RM et al. Matrix metalloproteinase-9 activates TGF-beta and stimulates fibroblast contraction of collagen gels. *American journal of physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2014;306:L1006–L1015.

Korita D, Sagawa N, Itoh H, et al. Cyclic mechanical stretch augments prostacyclin production in cultured human uterine myometrial cells from pregnant women: possible involvement of upregulation of prostacyclin synthase expression. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:5209–5219.

Kramer MS, Papageorghiou AT, Culhane J, Bhutta Z, Goldenberg RL, Gravett M et al. Challenges in defining and classifying the preterm birth syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 2012;206:108-112.

Kumazaki K, Nakayama M, Yanagihara I, Suehara N, Wada Y. Immunohistochemical distribution of toll-like receptor-4 in term and preterm human placenta from normal and complicated pregnancy including chorioamnionitis. *Hum Pathol.* 2004;35:47–54.

Lee SM, Park KH, Jung EY, Soo-Hyun C, Ryu A. Prediction of spontaneous preterm birth in women with cervical insufficiency: Comprehensive analysis of multiple proteins in amniotic fluid. *The Journal Obstetrics and Gynaecology Research.* 2016;1-8.

Lee J, Romero R, Xu Y, Miranda J, Yoo W, Chaemsathong P, Kusanovic JP, Chaiworapongsa T, Tarca AL, Korzeniewski SJ, Hassan SS, Than NG, Yoon BH, Kim CJ. Detection of anti-HLA antibodies in maternal blood in the second trimester to identify patients at risk of antibody-mediated maternal anti-fetal rejection and spontaneous preterm delivery. *Am J Reprod Immunol.* 2013; 70(2):162-75.

Lei H, Furth EE, Kalluri R, et al. A program of cell death and extracellular matrix degradation is activated in the amnion before the onset of labor. *J Clin Investig.* 1996;98:1971–1978.

Leitich H, Kiss H. Asymptomatic bacterial vaginosis and intermediate flora as risk factors for adverse pregnancy outcome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2007;21(3):375-390.

Lemancewicz A, Laudański P, Kuc P, Pierzyński P, Krętowska M, Urban J. Matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 urine levels in preterm labouring patients. *Archives of Perinatal Medicine.* 2007;13(2):50-52.

Li Y, He P, Sun Q, et al. Reduced expression of 15-hydroxy prostaglandin dehydrogenase in chorion during labor is associated with decreased PRB and increased PRA and GR expression. *Am J Pathol.* 2013;182:1585–1594.

Linton EA, Perkins AV, Woods RJ, et al. Corticotropin releasing hormone-binding protein (CRHBP): plasma levels decrease during the third trimester of normal human pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;76:260 - 262.

Liu Y, Liu Y, Zhang R, Zhu L, Feng Z. Early- or mid-trimester amniocentesis biomarkers for predicting preterm delivery: a meta-analysis. *Annals of Medicine*. 2016;1-10.

Lockwood CJ, Krikun G, Aigner S, et al. Effects of thrombin on steroid-modulated cultured endometrial stromal cell fibrinolytic potential. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81:107–112.

Lockwood C, Kuczynski E. Markers of preterm delivery risk. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1998;12:301–303.

Luchin F, Wong LF, Wilkes J, Korgenski K, Varner MW, Manuck TA. Risk factors associated with preterm birth after a prior term delivery. *BJOG*. 2016;123(11):1772–1778.

Makrakis E, Grigoriou O, Kouskouni E, Vitoratos N, Salamalekis E, Chatzoudi E, Creatsas G. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in plasma/serum and urine of women during term and threatened preterm labor: a clinical approach. *The Journal of Maternal–Fetal and Neonatal Medicine*. 2003;14:170-176.

Manuck TA, Esplin MS, Biggio J, Bukowski R, Parry S, Zhang H, et al. The phenotype of spontaneous preterm birth: application of a clinical phenotyping tool. *Am J Obstet Gynecol*. 2015;212(487):e1-e11.

Matijasevich A, Silveira MF, Matos AC, Neto DR, Fernandes RM, Maranhão AG, Cortez-Escalante JJ, Barros FC, Victora CG. Estimativas corrigidas da prevalência de nascimentos pré-termo no Brasil, 2000 a 2011. *Epidemiol Serv Saúde Brasília*. 2013;22(4),557-564.

Maymon E, Romero R, Pacora P, Gervasi MT, Gomez R, Edwin SS, Yoon BH. Evidence of in vivo differential bioavailability of the active forms of matrix metalloproteinases 9 and 2 in parturition, spontaneous rupture of membranes, and intra-amniotic infection. *American Journal Obstetrics and Gynecology*. 2000;183:887-894.

McNair RD, Macdonald SR, Dooley SL, Peterson LR. Evaluation of the centrifuged and gram-stained smear, urinalysis, and reagent strip testing to detect asymptomatic bacteriuria in obstetric patients. *American Journal Obstetric and Gynecology*. 2000;182(5):1076-1079.

McLaren J, Taylor DJ, Bell SC. Increased concentration of pro-matrix metalloproteinase 9 in term fetal membranes overlying the cervix before labor: Implications for membrane remodeling and rupture. *American Journal Obstetric and Gynecology*. 2000;182(2):409-416.

McLean M, Bisits A, Davies J, et al. A placental clock controlling the length of human pregnancy. *Nat Med*. 1995;1:460-463.

Mendelson CR. Minireview: fetal-maternal hormonal signaling in pregnancy and labor. *Mol Endocrinol*. 2009;23:947-954.

Mendes JA, Machado WR, Kalume AG, Cortez-Escalante JJ, Machado de Rezende LF, Matijasevich A. Mortality on the first day of life: trends, causes of death and avoidability in eight Brazilian Federative Units, between 2010 and 2015. *Epidemiol Serv Saude Brasília*. 2019;28(1):01-11.

Mendoza LA, Claros DI, Mendoza LI, Arias MD, Peñaranda CB. Epidemiología de la prematuridad, sus determinantes y prevención del parto prematuro. *Rev Chil Obstet Ginecol*. 2016; 81(4):330 - 342.

Mesiano S, Welsh TN. Steroid hormone control of myometrial contractility and parturition. *Semin Cell Develop Biol*. 2007;18:321-331.

Morken NH, Kallen K, Jacobsson B. Fetal growth and onset of delivery: a nationwide population-based study of preterm infants. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;195:154-156.

Murphy G, Nguyen Q, Cockett MI, Atkinson SJ, Allan JA, Knight CG, Willenbrock F, Docherty AJ. Assessment of the role of the fibronectin-like domain of gelatinase A by analysis of a deletion mutant. *J Biol Chem*. 1994;269:6632–6636.

Nagase H, Woessner F. Matrix Metalloproteinases. *The Journal of Biological Chemistry*. 1999;274(31):21491–21494.

Nemeth E, Tashima LS, Yu Z, et al. Fetal membrane distention: I. Differentially expressed genes regulated by acute distention in amniotic epithelial (WISH) cells. *Am J Obstet Gynecol*. 2000;182:50–59.

Norwitz ER, Robinson JN, Challis JR. The control of labor. *N Engl J Med*. 1999;341:660–666.

Nugent RP; Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *Journal Clinical Microbiology*. 1991;29(2):297-301.

Orzechowski KM, Boelig RC, Berghella V. Cervical length screening in asymptomatic women at high risk and low risk for spontaneous preterm birth. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 2016;59(2),241–251.

Osmers R, Rath W, Pflanz MA, et al. Glycosaminoglycans in cervical connective tissue during pregnancy and parturition. *Obstet Gynecol*. 1993;81:88–92.

Palei AT, Sandrim VC, Cavalli RC, Tanus-Santos JE. Comparative assessment of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9, and their inhibitors, tissue inhibitors of metalloproteinase (TIMP)-1 and TIMP-2 in preeclampsia and gestational hypertension. *Clinical Biochemistry*. 2008;41:875–880.

Parry S, Strauss JF III. Premature rupture of the fetal membranes. *N Engl J Med*. 1998;338:663-70.

Passini JR, Cecatti JG, Lajos GJ, Tedesco RP, Marcelo L, Nomura ML, Dias TZ, Haddad SM, Rehder PM, Pacagnella RC, Costa MJ, Sousa MH. For the Brazilian Multicentre Study on Preterm Birth study group" Brazilian Multicentre Study on Preterm Birth (EMIP): Prevalence and Factors Associated with Spontaneous Preterm Birth. *Plos One*. 2014;9:

Patterson ML, Atkinson SJ, Knäuper V, Murphy G. Specific collagenolysis by gelatinase A, MMP-2, is determined by the hemopexin domain and not the fibronectin-like domain. *Febs Lett*. 2001;503: 158–162.

Pereza N, Pleša I, Peterlin A, Jan Z, Tul N, Kapovic M, Ostojic S, Peterlin B. Functional Polymorphisms of Matrix Metalloproteinases 1 and 9 Genes in Women with Spontaneous Preterm Birth. *Disease Markers*. 2014;1-7.

Petraglia F, Garuti GC, De Ramundo B, et al. Mechanism of action of interleukin-1 beta in increasing corticotropin-releasing factor and adrenocorticotropin hormone release from cultured human placental cells. *Am J Obstet Gynecol*. 1990;163:1307–1312.

Petraglia F, Sutton S, Vale W. Neurotransmitters and peptides modulate the release of immunoreactive corticotropin-releasing factor from cultured human placental cells. *Am J Obstet Gynecol*. 1989;160:247–251.

Pineda-Torres M, Flores-Espinosa P, Espejel-Nunez A, Estrada-Gutierrez G, Flores-Pliego A, Maida-Claros R, Zaga-Clavellina V. Evidence of an immunosuppressive effect of progesterone upon in vitro secretion of proinflammatory and prodegradative factors in a model of choriodecidual infection. *International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2015;122:1798–1807.

Preciado-Martínez E, García-Ruíza G, Flores-Espinosa P, Bermejo-Martínez L, Espejel-Nuñeza A, Estrada-Gutiérrez G, Razo-Aguilera G, Granados-Cepeda M, Helguera-Repetto C, Irlés C, Zaga-Clavellina V. Progesterone suppresses the lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory response in primary mononuclear cells isolated from human placental blood. *Immunological Investigations*. 2017;2-12.

Reyna-Villasmil E, Mejia-Montilla J, Reyna-Villasmil N, Torres-Cepeda DJ, Santos-Bolívar J, Rondón-Tapia M, Fernández-Ramírez A. Metaloproteinasa de la matriz 9 cervicovaginal en el segundo trimestre para la predicción de parto pretérmino. *Perinatología y Reproducción Humana*. 2017;31(1):10-15.

Romero R, Dey SK, Fisher SJ. Preterm labor: One syndrome, many causes. *Science*. 2014;345:760-764.

Romero R, Mazor M, Wu YK, Sirtori M, Oyarzun E, Mitchell MD, et al. Infection in the pathogenesis of preterm labor. *Semin Perinatol*. 1988;12:262–279.

Romero R, Roslansky P, Oyarzun E, Wan M, Emamian M, Novitsky TJ, et al. Labor and infection. II. Bacterial endotoxin in amniotic fluid and its relationship to the onset of preterm labor. *Am J Obstet Gynecol*. 1988;158:1044–1049.

Romero R, Sirtori M, Oyarzun E, et al. Infection and labor: prevalence, microbiology and clinical significance of intraamniotic infection in women with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol*. 1989;161(3):817-824.

Sankari SL, Krupaa RJ, Kailash Kumar GM, Balachander N. MMP- Matrix Metalloproteinase. *Biomedical & Pharmacology Journal*. 2016;9(2):885-888.

Sheiner E, Mazor-Drey E, Levy A. Asymptomatic bacteriuria during pregnancy. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2009;22(5):423-427.

Shiple J, Doyle GA, Fliszar CJ, Ye QZ, Johnson LL, Shapiro SD, Welgus HG, Senior RM. The structural basis for the elastolytic activity of the 92-kDa and 72-kDa gelatinases: role of the fibronectin type II-like repeats. *J Biol Chem*. 1996;271:4335–4341.

Smith R. Parturition. *N Engl J Med*. 2007;356: 271–283.

Sorokin Y, Romero R, Mele L, Wapner RJ, Iams JD, Dudley DJ, Spong CY, Peaceman AM, Leveno KJ, Harper M, Caritis SN, Miodovnik M, Mercer BM, Thorp JM, O'Sullivan MJ, Ramin SM, Carpenter MW, Rouse DJ, Sibai B, Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development MaternalFetal Medicine Units Network. Maternal serum interleukin-6, c-reactive protein, and matrix metalloproteinase-9 concentrations as risk factors for preterm birth < 32 weeks and adverse neonatal outcomes. *American Journal Perinatology*. 2010;27(8):631–640.

Tan H, Yi L, Rote NS, Hurd WW, Mesiano S. Progesterone Receptor-A and -B Have Opposite Effects on Proinflammatory Gene Expression in Human Myometrial Cells: Implications for Progesterone Actions in Human Pregnancy and Parturition. *Journal Clinic Endocrinology and Metabolism*. 2012;97(5):E719 –E730.

Thiex NW, Chames MC, Loch-Caruso RK. Tissue-specific induction of COX-2 and prostaglandins in lipopolysaccharide-stimulated extraplacental human gestational membranes in a 2-chamber transwell culture system. *Reprod Sci*. 2010;17:1120–1129.

Timmons B, Akins M, Mahendroo M. Cervical remodeling during pregnancy and parturition. *Trend Endocrinol Metab*. 2010;21:353–361.

Tokito A, Jougasaki M. Matrix Metalloproteinases in Non-Neoplastic Disorders. *Int J Mol Sci*. 2016;1178(17):2-29.

Tornblom SA, Klimaviciute A, Bystrom B, et al. Non-infected preterm parturition is related to increased concentrations of IL-6, IL-8 and MCP-1 in human cervix. *Reprod Biol Endocrinol*. 2005;3:39–49.

Trentini A, Maritati M, Cervellati C, Manfrinato MC, Gonelli A, Volta CA, Vesce F, Greco P, Dalocchio F, Bellini T, Contini C. Vaginal Lactoferrin Modulates PGE2, MMP-9, MMP-2, and TIMP-1 Amniotic Fluid Concentrations. *Mediators of Inflammation* 2016;1-7.

Uchida K, Ueno H, Inoue M, Sakai A, Fujimoto N, Okada Y. Matrix metalloproteinase-9 and tensile strength of fetal membranes in uncomplicated labor. *Obstet Gynecol.* 2000;95:851–855.

Ulrich CC, Arinze V, Wandscheer CB, Copley C, Nabati C, Etezadi-Amoli N, Burkin HR. Matrix metalloproteinases 2 and 9 are elevated in human preterm laboring uterine myometrium and exacerbate uterine contractility. *Biology of Reproduction* 2019;100(6):1597–1604.

Vadillo-Ortega F, Estrada-Gutiérrez G. Role of matrix metalloproteinases in preterm labor. *International Journal of Obstetrics and Gynaecology.* March 2005;112(1):19–22.

Verma RP, Hansch C. “Matrix metalloproteinases (MMPs): chemical biological functions and (Q)SARs”. *Bioorg Med Chem.* 2007;15(6): 2223–2268.

Villar J, Papageorghiou AT, Knight HE, Gravett MG, Jams J, Waller SA, et al. The preterm birth syndrome: a prototype phenotypic classification. *Am J Obstet Gynecol.* 2012;206:119-123.

Visse R, Nagase H. Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases Structure, Function, and Biochemistry. *Circ Res.* 2003;92:827-839.

Wegorzewska M, Nijagal A, Wong CM, Le T, Lescano N, Tang Q, Tippi C, MacKenzie TC. Fetal Intervention Increases Maternal T Cell Awareness of the Foreign Conceptus and Can Lead to Immune-Mediated Fetal Demise. *The Journal of Immunology.* 2014;192:1938–1945.

Weiss A, Goldman S, Shalev E. The matrix metalloproteinases (MMPs) in the decidua and fetal membranes. *Front Biosci.* 2007;12:649–659.

Winkler M, Rath W. Changes in the cervical extracellular matrix during pregnancy and parturition. *J. Perinat. Med.* 1999;27:45-61.

Woessner JF Jr. The family of matrix metalloproteinases. *Ann N Y Acad Sci.* 1994;732:11-21.

Wong LF, Wilkes J, Korgenski K, Varner MW, Manuck TA. Risk factors associated with preterm birth after a prior term delivery. *International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2016;123(11):1772–1778.

Word RA, Li XH, Hnat M, et al. Dynamics of cervical remodeling during pregnancy and parturition: mechanisms and current concepts. *Semin Reprod Med*. 2007;25:69–79.

Xu P, Alfaidy N, Challis JR. Expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 in human placenta and fetal membranes in relation to preterm and term labor. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(3):1353–1361.

Yin Z, Sada AA, Reslan OM, Narula N, Khalil RA. Increased MMPs expression and decreased contraction in the rat myometrium during pregnancy and in response to prolonged stretch and sex hormones. *American Journal Physiology Endocrinology Metabolism*. 2012; 303:E55–E70.

Yonemoto H, Young CB, Ross JT, Guilbert LL, Fairclough RJ, Olson DM. Changes in Matrix Metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 in the Fetal Amnion and Chorion During Gestation and at Term and Preterm Labor. *Placenta*. 2006;27:669-677.

Yoon BH, Romero R, Jun JK, et al. An increase in fetal plasma cortisol but not dehydroepiandrosterone sulfate is followed by the onset of preterm labor in patients with preterm premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol*. 1998;179:1107–1114.

Zaga-Clavellina V, Garcia-Lopez G, Flores-Herrera H, Espejel-Nunez A, Flores-Pliego A, Soriano-Becerril D, et al. In vitro secretion profiles of interleukin (IL)-1b, IL-6, IL-8, IL-10, and TNFa after selective infection with *Escherichia coli* in human fetal membranes. *Reprod Biol Endocrinol*. 2007;13:5–46.

Zaga-Clavellina V, Lopez GG, Estrada-Gutierrez G, Martinez-Flores A, Maida-Claros R, Beltran-Montoya J, et al. Incubation of human chorioamniotic membranes with *Candida albicans* induces

differential synthesis and secretion of interleukin-1b, interleukin-6, prostaglandin E, and 92 kDa type IV collagenase. *Mycoses*. 2006;49:6-13.

Zaga V, Estrada-Gutierrez G, Beltran-Montoya J, Maida-Claros R, Lopez-Vancell R, Vadillo-Ortega F. Secretions of interleukin-1b and tumor necrosis factor a by whole fetal membranes depend on initial interactions of amnion or choriodecidua with lipopolysaccharides or group B streptococci. *Biol Reprod* 2004;71:1296-1302.

Zhang GE, Srivastava A, Bacelis J, Juodakis J, Jacobsson B, Muglia L. Genetic studies of gestational duration and preterm birth. *Best Practice Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 2018;52:33-47.



Anexos

ANEXO A

Aprobación del Comité de Ética en Investigación del Hospital das Clínicas de la Facultad de
Medicina de Ribeirão Preto



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

www.hcrp.fmrp.usp.br



Ribeirão Preto, 13 de novembro de 2008

Ofício nº 4116/2008
CEP/RCC

Prezados Professores,

O trabalho intitulado **“FATORES ETIOLÓGICOS DO NASCIMENTO PRÉ-TERMO E CONSEQUÊNCIAS DOS FATORES PERINATAIS NA SAÚDE DA CRIANÇA: COORTES DE NASCIMENTOS EM DUAS CIDADES BRASILEIRAS”**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 276ª Reunião Ordinária realizada em 10/11/2008, e enquadrado na categoria: **APROVADO, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.**

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 196/96 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

Atenciosamente.

PROF. DR. SÉRGIO PEREIRA DA CUNHA
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimos Senhores
PROF. DR. MARCO ANTONIO BARBIERI
PROFª. DRª. HELOISA BETTIOL
Depto. de Puericultura e Pediatria

ANEXO B

Protocolo de investigación para recolección de datos clínicos

9A. Idade gestacional pela ultrassonografia do recrutamento:

__ semanas

IDGESTUSR

99. Não sabe

10A. Idade gestacional atual (pela USG):

__ semanas

IDGESTAT

99. Não sabe

BLOCO B – DADOS DE CONTATO

1B. Qual o seu endereço completo?

-

—

Telefone residencial: ____-____ Outro telefone: ____-____ celular: ____-____

2B. Para facilitar futuros contatos, a sra. poderia nos fornecer o nome, relação de parentesco ou amizade, endereço e telefone fixo ou celular de parentes ou pessoas próximas com quem a sra. tem contato frequente?

Nome da pessoa:

Parentesco/Amizade: _____

—

Endereço:

—

Telefone residencial: ____-____ Telefone comercial: ____-____ celular: ____-____

Nome da pessoa:

Parentesco/Amizade: _____

—

Endereço:

—

Telefone residencial: ____-____ Telefone comercial: ____-____ celular: ____-____

—

3B. A sra. poderia nos fornecer o endereço e o telefone do seu trabalho?

Endereço:

Telefone comercial: ____-____-____ Telefone comercial: ____-____-____

4B. Se a sra. pretende mudar de cidade, poderia nos informar o nome, endereço e o telefone de contato de algum parente ou alguém que more próximo à sua nova residência?

Nome da pessoa: _____

Endereço: _____

Telefone residencial: ____-____-____ Telefone comercial: ____-____-____ celular: ____-____-____

BLOCO F – DADOS DA SAÚDE SEXUAL E REPRODUTIVA

1F. Com quantos parceiros do sexo masculino a sra. já teve relação sexual? __

99. Não sabe NPARCEIROS

2F. Algum parceiro sexual masculino já disse à sra. que teve doença sexualmente transmissível (doença venérea)?

1. Sim

2. Não Passe para a questão 4F

9. Não sabe DST

3F. Caso o parceiro já tenha lhe dito, qual o nome da (s) doença(s)?

88. Não se aplica

99. Não sabe NOMEDST

4F. Algum dos parceiros sexuais masculinos já lhe disse ser HIV positivo ou ter AIDS?

1. Sim

2. Não

9. Não sabe HIV

5F. A sra. já foi chamada por algum serviço de saúde por ter tido relação sexual com alguma pessoa com doença sexualmente transmissível?

1. Sim

2. Não Passe para a questão 7F

9. Não sabe SSDST

6F. Caso tenha sido chamada, qual o nome da (s) doença(s)?

88. Não se aplica

NOMESSDST

4G. Qual o seu peso antes de engravidar? ____ , ____ kg		
9999. <input type="checkbox"/> Não sabe	PESOANTESP	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
5G. Qual a sua altura antes de engravidar? ____ , ____ cm		
9999. <input type="checkbox"/> Não sabe	ALTURAANTP	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
6G. A sra está fazendo pré-natal?		
1. <input type="checkbox"/> Sim		
2. <input type="checkbox"/> Não Passe para a questão 1H		<input type="checkbox"/>
9. <input type="checkbox"/> Não sabe	PNP	
7G. Qual a data da primeira consulta pré-natal (DD/MM/AAAA)? __ / __ / ____		
88888888. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
99999999. <input type="checkbox"/> Não sabe	DT1CPNP	<input type="checkbox"/>
8G. Em que mês de gravidez a sra. iniciou as consultas de pré-natal? __		
88. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
99. <input type="checkbox"/> Não sabe	MES1CPNP	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
9G. Quantas consultas de pré-natal a sra. fez no 1º trimestre de a gestação? __		
88. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
99. <input type="checkbox"/> Não sabe	QTCPN1TP	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
10G. Onde a sra. está realizando o pré-natal nesta gestação?		
1. <input type="checkbox"/> SUS (posto de saúde, hospital universitário)		
2. <input type="checkbox"/> Plano de Saúde		
3. <input type="checkbox"/> Particular		
8. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
9. <input type="checkbox"/> Não sabe	LOCALPN	

Agora vamos conversar um pouco sobre o hábito de fumar.

1D. A sra. fumou ou fuma durante esta gravidez?		
1. <input type="checkbox"/> Sim		
2. <input type="checkbox"/> Não Passe para questão 16D		<input type="checkbox"/>
9. <input type="checkbox"/> Não sabe	FUMOGRAVP	
2D. Quantos cigarros a sra. fuma ou fumou por dia durante a gravidez? __ __		
88. <input type="checkbox"/> Não se aplica		
99. <input type="checkbox"/> Não sabe	QTFUMOP	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

ANEXO C

Artículo Original

Relación entre los niveles de metaloproteinasas MMP-2 y MMP-9 en plasma y secreción vaginal con parto prematuro.

Resumen:

Introducción: El parto prematuro (PP) se define como el nacimiento antes de las 37 semanas, las metaloproteinasas de matriz (MMPs) 2 y 9, degradan la matriz extracelular en cérvix, membranas fetales con efectos a nivel de placenta y miometrio, favoreciendo el PP. *Pacientes y métodos:* Es un estudio caso control, anidado en la cohorte prospectiva del proyecto BRISA, la muestra fue 1370 pacientes y un total de 129 PP, el grupo control está formado por 258 pacientes, los criterios de inclusión para casos: residir en Ribeirão Preto, embarazo evaluado entre 20 y 25 semanas y 6 días, parto antes de 37 semanas, para los controles se utilizó los mismos criterios, pero con parto mayor 36 semanas 6 días. Se analizó: edad materna, paridad, tabaquismo y antecedente PP, se colectó muestra de sangre y secreción vaginal para valorar MMP 2 y 9 por técnica de ELISA, se realizó diagnóstico de ITU y VB, por ultrasonido se midió cérvix. Por medio de curvas ROC y se obtuvo valores de corte de MMPs. Con modelos de regresión logística, se estimó las razones de probabilidad (OR) crudas y ajustadas. *Resultados:* se encontró 9.4% de PP, al OR crudo, determinó incremento del riesgo de PP, para hábito de fumar, antecedente de PP, cervix <2.5cm; MMP-2 en plasma OR 1.75 IC (1.14 – 2.68), MMP-9 en plasma OR 3.26 IC (2.09-5.07); para MMP-2 y 9 vaginal no se encontró diferencia. El OR ajustado en plasma para MMP-2 fue 1.42 IC (0.80-2.53) y para MMP-9 2.71 IC (1.52-4.83), con incremento de riesgo de PP para ITU. *Conclusiones:* niveles en plasma superiores al valor de corte de MMP-9 y niveles inferiores al valor de corte de MMP-2, están relacionados con PP, el antecedente de PP anterior, hábito de fumar, la ITU, y el cérvix < 2.5cm incrementan el riesgo de PP.

Palabras Clave: metaloproteinasas 2 en plasma, metaloproteinasas 9 en plasma, metaloproteinasas 2 en secreción vaginal, metaloproteinasas 9 en secreción vaginal, parto prematuro.

Introducción:

El parto prematuro (PP) se define como el nacimiento antes de las 37 semanas de gestación¹. La tasa global de PP es 9.6%, en América latina y el caribe 8.1%², el mayor porcentaje de prematuros por cada cien nacimientos, está en Costa Rica 13.6%, los más bajos Cuba y Ecuador con 6.4 y 5.1%; en Brasil 9.2%³. La tasa de mortalidad en los primeros cinco días de vida entre 2010 al 2015 fue del 2.4 por cada mil nacidos vivos en el estado de Sao Paulo⁴. Muchos factores

infecciosos, no infecciosos, antecedentes personales, familiares, sociales, económicos y hábitos están relacionados con PP^{5,6}.

Las contracciones uterinas y modificaciones cervicales, son el resultado de cambios producidos semanas antes, como: la activación del corion, amnios, placenta, miometrio y la maduración del cérvix⁷. La inflamación, infección, distensión uterina, hemorragia decidual, alteración vascular, envejecimiento decidual, disrupción de la tolerancia materno fetal, disminución de progesterona, activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal materno fetal e interacción génica, activan esos cambios⁷.

Dentro de estos mecanismos, intervienen las metaloproteinasas de la matriz (MMPs), endopeptidasas que contienen zinc, que participan en la degradación de la matriz extracelular^{8,9}. En base a la especificidad de sustrato y la organización de los dominios se dividen en: colagenasas, gelatinasas, estromelinas, matrilisinas, MMPs tipo membrana y otras MMPs¹⁰. Las gelatinasas, actúan sobre el colágeno desnaturalizado o gelatina; en este grupo están: la gelatinasa A (MMP-2) y la gelatinasa B (MMP-9); la primera actúa sobre: colágenos (I, II, III, IV, V, VII, X, XI y XIV), gelatina, elastina, fibronectina, agregano, osteonectina, laminina-1, MMP-1, MMP-9 y MMP-13; la segunda sobre: colágenos (IV, V, VII, X, XIV), gelatina, entactina, agregano, elastina, fibronectina, osteonectina, plasminógeno e IL-1b^{9,10,11,12,13,14,15}.

Son producidas como zimógenos inactivos (proMMP), que se activan, para degradar la matriz extracelular, presente en el corión, amnios y cérvix, esto ocasiona debilitamiento y posterior ruptura en el caso de las membranas¹⁶, en el cérvix reblandecimiento, favoreciendo la dilatación, sumado a las contracciones miometriales^{17,18}, dentro de este proceso la placenta se separa, por efecto entre otros de estas MMPs¹⁹.

El objetivo de este estudio es, relacionar los niveles en plasma y secreción vaginal de MMP-2 y MMP-9 entre las 20 y 25 semanas de edad gestacional, con el PP.

Pacientes y Métodos:

Este es un estudio de caso y control, anidado en la cohorte prospectiva BRISA proyecto temático "Factores etiológicos del PP y consecuencias de los factores perinatales en la salud infantil: cohortes de nacimiento en dos ciudades brasileñas". La muestra estaba compuesta efectivamente por 1370 parejas de madres e hijos; se comparó PP con parto a término (PA), para

ello 129 pacientes fueron consideradas caso, el grupo de control fueron 258 pacientes seleccionadas por sorteo aleatorio simple del resto de la cohorte, en relación 1:2.

Los criterios de inclusión y exclusión para casos fueron: residir en Ribeirão Preto, evaluado entre 20 y 25 semanas y 6 días, edad gestacional al parto menos de 37 semanas, firma consentimiento informado. Se excluyó: embarazo múltiple, fetos con malformaciones congénitas o síndromes cromosómicos y pérdida de seguimiento. Para los controles los mismos criterios anteriores y edad gestacional al parto más 36 semanas 6 días.

Por cuestionario estandarizado, se recopiló edad, paridad, tabaquismo y antecedente PP; para estimar edad gestacional, se utilizó el primer día del último ciclo menstrual, expresada en semanas y días, confirmado por ultrasonido antes de las 20 semanas.

Se recolectó muestra de secreción vaginal y mediante puntuación Nugent y/o la presencia de células clave, se diagnosticó vaginosis bacteriana (VB), se determinó morfotipos de Lactobacilos, Gardnerellas/Bacteroides y Mobiluncus, se cuantificaron de 1+ a 4+ de acuerdo con el número de microorganismos por campo, un puntaje igual o superior a siete se consideró positivo, 4-6 intermedio y 0-3 normal^{20,21,22}. En el mismo examen, se obtuvo 0.5ml de secreción de fondo de saco vaginal para cuantificar MMP-2^{23,24} y MMP-9^{23,25}. Se recogió orina para realizar cultivo, y diagnosticar infección de tracto urinario (ITU)²⁶.

Se colectaron 40 ml de sangre por punción venosa para cuantificar MMP-2²⁷ y MMP-9^{27,28}, el plasma se almacenó a -80°C. Las muestras seleccionadas de plasma y secreción vaginal, se matuvieron a -20°C por 24 horas, luego en hielo hasta el análisis, por técnica de ELISA, previa homogenización para MMP-2, mediante Quantikine ELISA Human, Immunoassay catalog number DMP2f0, R&D Systems; para MMP-9, mediante ELISA Kit Human catalog number KHC3061 invitrogen. Para las dos lecturas se utilizó el equipo Spectra Max M3 y el software SoftMax Pro 6.2.1.

Los ultrasonidos fueron realizados y validados de acuerdo a la Fetal Medicine Foundation²⁹, con el equipo: Modelo HDI 11, marca HDI en la Unidad de Investigación Clínica HC-FMRPUSP; con valor de corte de cérvix <2.5 cm.

Para el análisis estadístico, y obtener curvas ROC de MMPs, se utilizó el software STATA; con modelos de regresión logística, se estimó las razones de probabilidad (OR) crudas y ajustadas mediante el software SAS versión 9.4.

Este proyecto fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Universidad de São Paulo, Facultad de Medicina Ribeirão Preto.

Resultados:

De las 1370 pacientes, 129 tuvieron PP el 9.4%. En la (tabla 1), al comprar los dos grupos encontramos diferencia significativa en, hábito de fumar, cérvix <2.5cm y antecedente de PP.

Tabla 1 - Comparación de las características maternas gestacionales, ultrasonográficas, laboratoriales entre parto prematuro y parto a término.

Características	Parto Prematuro		Valor p
	Si (n = 129)	No (n = 258)	
Edad Materna (años), n (%)			
<19	14 (10.85)	21 (8.14)	0.559 ^a
19-35	104 (80.63)	219 (84.88)	
>35	11 (8.52)	18 (6.98)	
Paridad n (%)			
1	40 (33.05)	109 (42.25)	0.145 ^a
2 - 3	56 (46.29)	118 (45.74)	
≥4	25 (20.66)	31 (12.02)	
Tabaquismo n (%)	46 (35.6)	54 (20.93)	0.001 ^a
Vaginosis Bacteriana n (%)	20 (15.6)	40 (15.7)	0.987 ^a
Antecedente de PP n (%)	88 (68)	23 (8.9)	<0.001 ^a
Urocultivo positivo n (%)	16 (12.5)	27(10.4)	0.549 ^a
Cuello uterino >2.5 cm	19 (14.8)	12 (4.6)	0.001 ^a
Edad Gestacional (días), media (DE)	241.3 (20.2)	276.5 (8.5)	<0.001 ^b

^a: Chi square test; ^b: Student t test; DE: desviación estándar.

En la curva ROC de MMP-2 plasma, con área bajo la curva de 0.4, error estándar de 0.03 IC 95% (0.3 - 0.4); se escogió como punto de corte 239.4 ng/ml, con sensibilidad de 44.5% y especificidad de 41.8%, LR+ 0.7, LR-1.3. En la curva ROC de MMP-2 secreción vaginal, con área bajo la curva de 0.5, error estándar de 0.03 IC 95% (0.4 - 0.5), se escogió como punto de corte 3.22 ng/ml, con sensibilidad de 52.7% y especificidad de 48.4%, LR+ 1.02, LR-0.9. La curva ROC de MMP-9 en secreción vaginal, con área bajo la curva de 0.4, error estándar de 0.03 IC 95% (0.4 - 0.5), se escogió como punto de corte 145.1 pg/ml, con sensibilidad de 55.6% y especificidad de 45 %, LR+ 1.01, LR-0.98.

En la (figura 1) representamos la curva ROC de MMP-9 en plasma, obteniendo un área bajo la curva de 0.72, error estándar de 0.6 y un IC 95% (0.6- 0.7), con un valor p <0.05, estadísticamente significativo; se escogió como punto de corte 63.25 pg/ml, con sensibilidad de

66.4% y especificidad de 62.4%, LR+ 1.7, LR-0.5, en comparación a las tres anteriores tiene las mejores características.

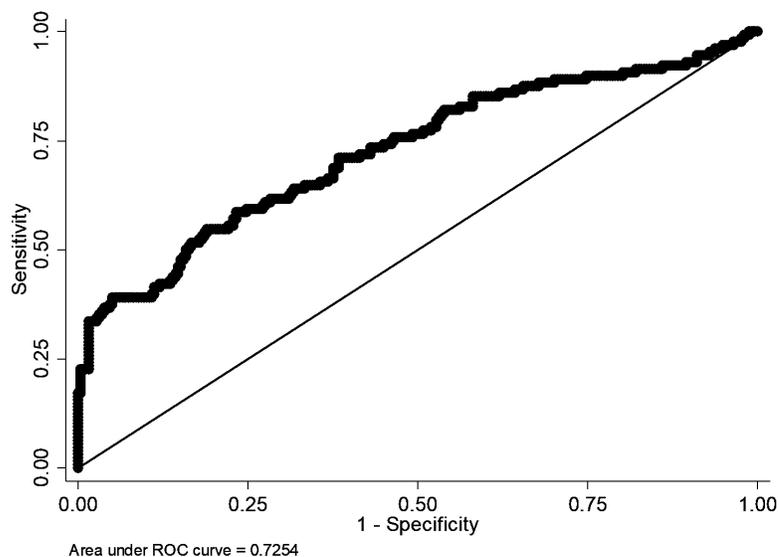


Figura 1: Curva operador- receptor para las concentraciones en plasma de MMP-9 para la predicción de parto prematuro.

Para la inferencia, calculamos el OR crudo por regresión logística univariada como observamos en la (tabla 2), encontrando un valor estadísticamente significativo con incremento del riesgo de PP, para hábito de fumar, antecedente de PP, la longitud cervical <2.5cm y en lo referente a las MMPs, los valores de MMP-2 en plasma, bajo el punto de corte y los de MMP-9 en plasma, sobre el punto de corte incrementaron el riesgo de PP con IC estadísticamente significativo; las MMP-2 y 9 vaginal no presentaron diferencia.

Tabla 2 - OR crudo de características sociodemográficas, clínicas y MMPs de parto prematuro en relación a parto a término.

	Caso n (%)	Control n (%)	OR ^a crudo	IC (95%)
Edad de la madre				
<19	14(10.85)	21(8.14)	1.40	(0.68 - 2.87)
19 – 35	104(80.62)	219(84.88)	Ref	Ref
>35	11(8.53)	18(6.98)	1.28	(0.58 - 2.82)
Paridad				
1	48(37.21)	109(42.25)	0.92	(0.58 - 1.47)
2 – 3	56(43.41)	118(45.74)	Ref	Ref
4 o más	25(19.38)	31(12.02)	1.69	(0.91 - 3.14)
Hábito de fumar				

No	83(64.34)	204(79.07)	Ref	Ref
Si	46(35.66)	54(20.93)	2.09	(1.31 - 3.34)
Antecedente parto prematuro anterior				
No	41(31.78)	235(91.09)	Ref	Ref
1 parto	74(57.36)	17(6.59)	24.94	(13.38 - 46.50)
2 partos	14(10.85)	6(2.33)	13.37	(4.86 - 36.80)
Vaginosis Bacteriana				
No	108(84.38)	215(84.31)	Ref	Ref
Si	20(15.63)	40(15.69)	0.99	(0.55 - 1.78)
ITU				
No	112(87.50)	231(89.53)	Ref	Ref
Si	16(12.50)	27(10.47)	1.22	(0.63 - 2.36)
Longitud cervical				
>2.5cm	109(85.16)	246(95.35)	Ref	Ref
<2.5cm	19(14.84)	12(4.65)	3.57	(1.67 - 7.61)
MMP-2 plasma				
>239.4 ng/ml	57(44.19)	150(58.14)	Ref	Ref
<239.4 ng/ml	72(55.81)	108(41.86)	1.75	(1.14 - 2.68)
MMP-2 vaginal				
<3.22 ng/ml	62(48.06)	127(49.22)	Ref	Ref
>3.22 ng/ml	67(51.94)	131(50.78)	1.04	(0.68 - 1.59)
MMP-9 plasma				
<63.25 pg/ml	44(34.11)	162(62.79)	Ref	Ref
>63.25 pg/ml	85(65.89)	96(37.21)	3.26	(2.09 - 5.07)
MMP-9 vaginal				
<145.1 pg/ml	60(46.51)	120(46.51)	Ref	Ref
>145.1 pg/ml	69(53.49)	138(53.49)	1.00	(0.65 - 1.52)

OR: razón de probabilidades; IC: intervalo de confianza; ^a: regresión logística.

En la (tabla 3) presentamos OR por regresión logística multivariado, de MMP-9 en plasma, ajustado para edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente de PP, VB, ITU y longitud cervical, encontrando una disminución estadísticamente significativa del riesgo de PP para las pacientes con 4 partos o más; el hábito de fumar y el antecedente de PP mantienen el incremento en el riesgo de PP, la ITU y la longitud cervical < de 2.5cm tienen un incremento en el riesgo, pero sin significancia estadística. En lo referente a la MMP-9 en plasma presenta un OR de 2.71 con un IC significativo.

Tabla 3 - OR ajustado, de MMP-9 en plasma de parto prematuro en relación con parto a término

	OR ^b ajustado	IC (95%)	Valor p
Edad de la madre			
<19	2.3	(0.94 - 6.27)	0.21
19 - 35	Ref	Ref	
>35	1.55	(0.54 - 4.45)	0.99

Paridad			
1	0.99	(0.51 – 1.92)	0.15
2 – 3	Ref	Ref	
4 o más	0.36	(0.14 – 0.92)	0.02
Hábito de fumar			
No	Ref	Ref	
Si	2.46	(1.26 – 4.79)	0.007
Antecedente parto prematuro anterior			
No	Ref	Ref	
1 parto	31.81	(15.05 – 67.25)	<.0001
2 partos	12.55	(3.95 – 39.85)	0.16
Vaginosis Bacteriana			
No	Ref	Ref	
Si	0.66	(0.29 – 1.52)	0.33
ITU			
No	Ref	Ref	
Si	2.26	(0.96 – 5.31)	0.06
Longitud cervical			
>2.5cm	Ref	Ref	
<2.5cm	2.47	(0.88 – 6.91)	0.08
MMP-9 plasma			
<63.25 pg/ml	Ref	Ref	
>63.25 pg/ml	2.71	(1.52 – 4.83)	0.0007

^b: ajustado por edad materna; paridad; tabaquismo; antecedente PP; longitud cervical; ITU; VB.

En la (tabla 4) presentamos el OR de MMP-2 en plasma, ajustado para edad de la madre, paridad, hábito de fumar, antecedente de PP, VB, ITU y longitud cervical, encontrando una disminución estadísticamente significativa del riesgo de PP para las pacientes con 4 partos o más; el hábito de fumar y el antecedente de PP mantienen el incremento en el riesgo de PP, la ITU y la longitud cervical < de 2.5cm tienen un incremento en el riesgo, con significancia estadística. En lo referente a la MMP-2 en plasma presenta un OR de 1.42 con un IC no significativo.

Tabla 4 - OR ajustado, de MMP-2 en plasma de parto prematuro en relación con parto a término

	OR ^b ajustado	IC (95%)	Valor p
Edad de la madre			
<19	2.23	(0.87 – 5.72)	0.33
19 – 35	Ref	Ref	
>35	1.77	(0.60 – 5.21)	0.76
Paridad			
1	1.15	(0.59 – 2.24)	0.09
2 – 3	Ref	Ref	
4 o más	0.40	(0.16 – 0.99)	0.02
Hábito de fumar			

No	Ref	Ref	
Si	2.20	(1.16 – 4.18)	0.01
Antecedente parto prematuro anterior			
No	Ref	Ref	
1 parto	33.01	(15.91 – 68.46)	<.0001
2 partos	14.61	4.75 – 44.94)	0.09
Vaginosis Bacteriana			
No	Ref	Ref	
Si	0.71	(0.32 – 1.59)	0.41
ITU			
No	Ref	Ref	
Si	2.32	(1.03 – 5.22)	0.04
Longitud cervical			
>2.5cm	Ref	Ref	
<2.5cm	2.32	(1.03 – 6.41)	0.10
MMP-2 plasma			
>239.4 ng/ml	Ref	Ref	
<239.4 ng/ml	1.42	(0.80 – 2.53)	0.22

^b: ajustado por edad materna; paridad; tabaquismo; antecedente PP; longitud cervical; ITU; VB.

Discusión:

En nuestro estudio, encontramos valores elevados de MMP-9 en plasma entre las 20 a 25 semanas, en pacientes que culminaron en PP, al comparar con PA; para interpretar este hallazgo, primero determinemos relación entre MMP-9 en plasma, suero, membranas fetales, líquido amniótico, orina y PP.

En un estudio realizado por Goldman et al., 2003, por zimografía se valoró la expresión de MMP-2 y 9 en decidua, corión, amnios, y TIMP-1 por western blot, en pacientes programadas para cesárea con actividad uterina regular, de mínimo una hora y otro grupo sin actividad uterina, se demostró que, las contracciones uterinas establecidas incrementan la actividad de MMP-2 en decidua acompañada por disminución de TIMP-1, además de incremento de la actividad de MMP-9 en amnios y disminución de TIMP-1; en el corión no hay cambios, a nivel de líquido amniótico hay incremento de los niveles de MMP-9 sobre MMP-2 con disminución de TIMP-1; esto sugiere una actividad jerárquica de las MMPs para favorecer la ruptura de membranas y evitar la separación prematura de la placenta, resultados similares a los que nosotros encontramos, con la diferencia, que nuestro análisis fue realizado en el segundo trimestre y con muestra en plasma, pero nos permite advertir que existe una expresión diferencial de estas MMPs³⁰.

En el estudio, sobre biodisponibilidad in vivo de las formas activas de MMP-9 y 2 en PP, PA, ruptura espontánea de membranas e infección intraamniótica, se determinó concentraciones

en líquido amniótico de formas activas de MMP-2 y 9, para ello se realizó un estudio transversal con 291 mujeres en varias categorías, y concluyo que la ruptura espontánea de membranas (ya sea a término o prematura), el parto (ya sea a término o prematuro) y la invasión microbiana de la cavidad amniótica se asociaron con, valores elevados de formas activa de MMP-9 y por el contrario MMP-2 con valores bajos, similares a nuestros hallazgos con la diferencia que nuestro análisis fue entre 20 y 25 semanas³¹.

En un estudio de Lee et al.,2016 se determinó si las citocinas y MMP en líquido amniótico, solas o en combinación con factores de riesgo clínicos, pueden predecir el PP <34 semanas en mujeres con insuficiencia cervical, para ello se diseñó una cohorte retrospectiva de 57 mujeres, entre 17 a 28 semanas de gestación con insuficiencia cervical, que fueron sometidas a amniocentesis, encontrando niveles mayores de: MMP-1, MMP-3, MMP-8, MMP-9, IL-6, IL-8, proteína inflamatoria de macrófago(MIP)-1 α y MIP-1 β en mujeres con PP <34 semanas, concluyendo que un modelo que combine marcadores químicos y características clínicas mejora la predicción de riesgo de PP en mujeres con insuficiencia cervical, este estudio difiere en la muestra, el tipo de pacientes pero coincide en la edad de análisis, en relación a nuestro analisis³².

En un estudio de Koucky et al., 2010 para determinar relación entre concentraciones séricas maternas y en sangre de cordón umbilical de MMP-2,8,9 además de otros compuestos como: el receptor soluble para productos finales de glicación avanzada (sRAGE), IL-10, en 67 mujeres con labor de PP y en 38 mujeres embarazadas sanas con parto a término. El grupo con trabajo de PP se dividió adicionalmente en función de la presencia de funisitis y elevaciones de las concentraciones de IL-6 umbilical, al final se encontró, que niveles de MMP-2 séricos en la madre, fueron significativamente más bajos en mujeres con PP en comparación con PA, y dentro del grupo de mujeres con PP, funisitis e IL-6 elevada, los niveles de MMP-2 en suero fueron significativamente más bajos, los valores de MMP-9 fueron elevados en el PP en relación con los controles, estos resultados coinciden con los nuestros, difiere en la edad gestacional y que suman muestra de sangre de cordón²⁷.

La infección bacteriana, induce inflamación con producción de citocinas proinflamatorias como la IL-1b, TNF-a, IL-6, IL-8 que inducen la secreción de MMPs como MMP-9^{33,34}. Durante un proceso infeccioso las membranas fetales y la región coriodecidual constituyen la principal barrera contra la progresión de la infección en la cavidad amniótica. Hay evidencia que respalda la

posibilidad de que la región coriódica responde activamente contra patógenos y endotoxinas secretando factores proinflamatorios y colagenolíticos^{35,36,37,38}.

Por tanto, los procesos infecciosos y no infecciosos, que pueden causar PP pueden afectar el sistema MMP a través de cinco vías: 1. Incremento de MMP-9, que resulta en ruptura prematura de membranas; 2. Incremento de MMP-3, que resulta en ruptura prematura de membranas directa o indirectamente a través de aumento de la expresión de MMP-9; 3. Incremento de MT-MMP (MMP-14) y de TIMP-2, que resulta en la activación de MMP-2 (este último conduce a ruptura prematura de membranas directa o indirectamente a través de una mayor expresión de MMP-9; 4. Producción de citocinas, que incrementan la producción de MMPs; 5. Incremento de la proteína apoptótica p53, que induce el gen MMP-2, el gen de la MMP-9 es inducido por la infección intra amniótica, la ruptura prematura de membranas, la labor de parto PA y PP³⁹.

En los estudios analizados anteriormente, hemos podido determinar que la MMP-9 se encuentra elevada en distintos fluidos corporales, tejidos placentarios y membranas fetales en pacientes en labor de PA y prematura, ruptura prematura de membranas fetales, con o sin proceso infeccioso; esto coincide con nuestro estudio en el cual encontramos también elevación de MMP-9. Por tanto, el siguiente paso es determinar si esta alteración de la MMP-9 puede presentarse en el segundo trimestre, en pacientes que terminarán en un PP.

Esta elevación, de la MMP-9 en el segundo trimestre, puede estar relacionada a la progesterona y su receptor, se realizó un estudio, para evidenciar el efecto inmunosupresor de progesterona tras la secreción *in vitro* de factores proinflamatorios y prodegradativos en un modelo de infección coriódica, y se encontró, que la progesterona disminuyó significativamente la secreción de TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-10, en el caso de MMP-9 está fue inhibida. La mifepristona bloqueó el efecto inmunosupresor, lo que indica un posible mecanismo de progesterona a través de su receptor, esto ofrece evidencia que la progesterona puede proteger la unidad fetal-placentaria a través de un mecanismo compensatorio que limita parcialmente la secreción de moduladores proinflamatorios y de enzimas tipo gelatinasas⁴⁰.

Hay estudios que informan alteraciones de la expresión del gen MMP-1 y MMP-9 en términos de niveles elevados en suero, líquido amniótico, membranas fetales, fibroblastos cervicales y tapón de moco cervical en mujeres con PP comparado con mujeres con PA, los polimorfismos funcionales ubicados en las regiones promotoras MMP-1 y MMP-9 podrían ser un factor contribuyente en el PP. Hay estudios que evaluaron el papel potencial del polimorfismo del

gen MMP-9-1562 C T como factor de predisposición para ruptura prematura pretérmino de membranas en mujeres africanas, americanas, chinas y caucásicas con resultados variables^{41,42,43}.

Aunque en la mayoría de los mamíferos, el parto está asociado con una marcada disminución de la progesterona materna, en los humanos, la progesterona y los RP uterina permanecen elevados durante el embarazo, por tanto, el efecto debe estar a nivel de los RP. El parto AT y el PP en humanos y roedores están asociados con una respuesta inflamatoria, la infección intraamniótica es el estímulo para aumentar las interleucinas del líquido amniótico y la migración de células inflamatorias hacia el útero y el cuello uterino, por tanto el aumento de la respuesta inflamatoria y la activación del factor nuclear de transcripción NF-kB, favorece la contractilidad uterina a través de, activación directa de genes contráctiles: COX-2, receptor de oxitocina y conexina p43 y también por alteración de la capacidad de PR para mediar la inactividad uterina.

Durante el embarazo, el útero permanece en reposo, el PR actúa dependiente de ligando, incrementando la expresión del inhibidor de NF-kB que es el Ik B alfa, en las células miometriales.

Alternativamente, PR actúa de manera independiente del ligando, a través de interacción directa proteína-proteína, para bloquear la activación de NF-kB. La labor de parto, puede iniciarse prematuramente por infección bacteriana, y posterior migración de macrófagos a la madre, con liberación de citoquinas que inducen producción de MMPs y activación de NF-kB, en fetos a término esto puede deberse a señales de maduración fetal, dentro del útero, el NF-kB activado aumenta la expresión de genes contráctiles y causa una alteración de la función de PR; al inducir genes contráctiles se incrementa la producción de prostaglandinas por acción de COX-2, y por tanto u aumento de las MMPs⁴⁴.

Podemos de acuerdo a estos estudios concluir, que probablemente la disminución en la progesterona o una alteración en su receptor puede determinar la pérdida del efecto inmunosupresor de esta hormona, que podemos evidenciar por el incremento de MMP-9.

Al analizar la MMP-9 en secreción vaginal en pacientes que culminaron en PP, al comparar con PA, no encontramos diferencia. En el estudio caso-control de Reyna-Villasmil et al., 2017 con 613 pacientes gestantes, se realizó una medición de MMP-9 en secreción cérvico vaginal, entre 24 y 28 semanas para determinar relación con PP, encontrándose niveles elevados de MMP-9 en pacientes que terminaron en PP; pero no es útil para predicción pues tiene un valor bajo la curva de 0.59, especificidad: 41.1%, sensibilidad 75%: VPP:10.5%, VPN: 94.6% , este resultado es diferente a nuestro hallazgo. En un estudio de Becher et al., 2010, se encontró que las pacientes

que terminaron en PP, presentaron valores elevados de MMP-9, en moco cervical distal apoyando al hallazgo del estudio anterior²³. Podemos concluir, que los hallazgos de MMP-9 en secreción vaginal, de otros estudios difieren con nuestros resultados, los cuales pueden deberse a que analizamos todos los PP, espontáneos y no espontáneos.

En lo referente a MMP-2, encontramos valores bajos en plasma en pacientes que culminaron en PP, al comparar con PA. El primer análisis, está encaminado a determinar los estudios que encuentran valores bajos de MMP-2 en varios fluidos corporales en relación con PP, para posteriormente tratar de buscar estudios de esta enzima en segundo trimestre como predictor de la patología.

En el estudio, de Maymon et al.,2000 ya analizado concluyo que la ruptura espontánea de membranas (ya sea a término o prematuro), el parto (ya sea a término o prematuro) y la invasión microbiana de la cavidad amniótica se asociaron con, valor elevado de la forma activa de MMP-9 y la MMP-2 por el contrario con valores bajos, similar a nuestros hallazgos, con la diferencia que nuestro análisis fue en el segundo trimestre³¹.

En el año 2002, Xu et al, realizo un estudio para determinar MMP-2 y 9 en membranas fetales y placenta, con o sin labor de PP y PA, encontrando que MMP-9 se encuentra elevada en los casos de PP y PA; al comparar con los pacientes sin labor de parto, tanto en membranas fetales como en placenta, la MMP-2 no tuvo diferencia significativa entre PP Y PA, sin embargo al revisar los datos encontramos valores inferiores de MMP-2 en PP Y PA al comparar con pacientes sin labor de parto. Por medio de inmuno localización se pudo encontrar un patrón específico de distribución, MMP-2 se encuentra en el mesénquima amniótico, corion liso, decidua parietal y en vasos sanguíneos de vellosidades placentarias, MMP-9 fue localizada principalmente en epitelio amniótico, corión liso, decidua parietal y sincitiotrofoblasto, para complementar se encontró que el sincitiotrofoblasto y las células epiteliales amnióticas producen solo MMP-9, el corión secreta ambas MMPs y las células del amnios mesenquimal produce solo MMP-2¹⁹.

No se encontró estudios, que valoren MMP-2 en plasma, como predictor de PP; lo que determinamos son valores inferiores de MMP-2 en pacientes con PP, en contraposición a los valores elevados de MMP-9; por tanto nuestro siguiente paso es tratar de encontrar una explicación a este hallazgo.

Aunque las dos enzimas son gelatinasas, tiene distinción genómica y de mecanismos reguladores, la MMP-9 es inducible, mientras que MMP-2 es constitutiva. Las citoquinas

proinflamatorias y las proteasas bacterianas son capaces de inducir ARN mensajero, para sintetizar y secretar MMP-9^{45,46}.

Estos valores contrapuestos de las MMP-2 y 9 pueden representar, un auto control para evitar daños, por la actividad colagenolítica excesiva. Un incremento apropiado de la MMPs puede ser importante durante el embarazo para facilitar la respuesta del huésped en contra de infecciones, por otro lado, la actividad gelatinolítica excesiva y no controlada puede ser nociva.

Por lo tanto, la MMP-2 pueden haber surgido como enzima constitutiva que participa en la remodelación del tejido normal y la MMP-9 como enzima inducible para la cual se realiza la transcripción, regulada por factores que participan en la inflamación e infección.

La fibra muscular miometrial, sin contracción es mantenida por la progesterona producida en la placenta, sumada a la CRH, una caída en los niveles de progesterona o una alteración en su receptor podría alterar este equilibrio^{44,47}, por tanto, valores bajos de MMP-2 podrían estar relacionados a progesterona.

En el estudio de Goldman et al., 2007 que tuvo como objetivo explorar el efecto de la progesterona en la expresión de gelatinasa en las membranas corio amnióticas y la decidua, antes y después de las contracciones; encontramos que la progesterona disminuyó la secreción de MMP2 en decidua, antes de que iniciaran las contracciones; la progesterona no pudo inhibir la expresión de MMP2 en el amnios y corion antes de que inicien las contracciones; después del inicio de contracciones, la progesterona no pudo inhibir la expresión de MMP2 tanto en decidua como en membranas fetales, esto en embarazo a término, esto nos permite entender que la progesterona ejerce efecto sobre MMP-2⁴⁸.

En un estudio de Caritis et al.,2018 se evalúa el impacto del antecedente de PP y el tratamiento con caproato de 17-hidroxiprogesterona, en las citocinas del fluido cervical y las MMP, la muestra fue de moco cervical, se obtuvo entre 16 - 25 semanas de mujeres con PA , mujeres con uno o más PP anteriores que optaron por recibir el tratamiento o no lo aceptaron, se encontró diferencia significativa en los valores de MMP-2 que fueron mucho menores en pacientes que no recibieron la medicación, en comparación con quienes se administraron caproato de 17-hidroxiprogesterona, indirectamente podemos asociar por tanto que MMP-2 es baja en pacientes de riesgo de PP y que la progesterona eleva el nivel de MMP-2. Podemos por tanto concluir, que la MMP-2 es baja, porque se contrapone a los valores elevados de MMP-9, para limitar la actividad colagenolítica excesiva, en las pacientes de riesgo para PP⁴⁹.

En nuestro estudio, no se encontró diferencia en los valores de MMP- 2 en secreción vaginal entre PP y PA. En un estudio realizado en 35 mujeres entre 18 y 24 semanas de gestación se valoró longitud cervical por ecografía, ácido láctico por colorimetría y MMP-2 por ELISA en fluido vaginal, encontrándose un incremento de MMP-2 relacionado con disminución de la longitud cervical y los valores de ácido láctico, los niveles de MMP-2 y ácido láctico no tuvo relación con la edad gestacional, de igual manera la longitud cervical con la edad, la paridad, antecedente de aborto y sludge en la cavidad amniótica⁵⁰. Por tanto, al encontrarse resultados contradictorios, hace falta realizar más estudios para determinar la verdadera relación.

Al valorar edad materna, encontramos mayor riesgo de PP en las pacientes menores de 19 y mayores de 35 años, pero con valores sin significancia estadística. La literatura reporta, mayor riesgo de PP en grupos abajo de 19 años y encima de 35 años⁵¹. En nuestro estudio ni el OR bruto, ni el OR ajustado presentaron significancia estadística.

En cuanto a paridad, encontramos que las pacientes con 4 partos o más disminuyeron el riesgo de PP en comparación con PA, esto se encuentra en el análisis de OR ajustado; en el OR bruto no se encuentra ninguna diferencia, en esta variable la referencia fue tener 2 o 3 hijos; en el estudio de Bezerra et al, 2006, no encontró relación entre paridad y prematuridad⁵². En conclusión, la paridad no es un factor de riesgo de PP, por el contrario, el tener más hijos podría disminuir este riesgo.

En nuestro estudio el hábito de fumar incremento el riesgo de PP en comparación con PA, las pacientes fumadoras, presentaron un OR bruto semejante a la evidencia, de acuerdo a Grantz et al., 2015 que presento un RR de 1.95 con IC 95% (1.53- 2.49), estadísticamente significativo⁵³.

En un estudio de Wong et al., 2016, se analizó los factores de riesgo asociados a PP, luego de haber tenido un PA anterior, en un estudio caso control, con 1353 casos y 34630 controles, ambos grupos fueron similares en cuanto a etnia, edad y como resultado se encontró un riesgo mayor de PP en pacientes que consumen tabaco, o tienen un intervalo de embarazo menor a 18 meses⁵⁴.

En pacientes con cérvix corto, que además fuman más de 15 unidades por día el riesgo de PP, se duplico, de acuerdo al estudio de cohorte retrospectivo de Findley et al., 2015⁵⁵. En conclusión, el tabaco es una causa comprobada de PP.

La longitud de cérvix menor de 2.5cm incrementa el riesgo de PP en comparación con PA. En un estudio observacional, prospectivo y multicéntrico de Celik el al., 2008, valoraron la longitud

de cuello de útero, en 58.807 gestantes entre 20 e 25 semanas de embarazo, entre 1998 a 2006; encontrando incremento de riesgo de PP, cuando el cuello uterino es menor a 2.6cm, RR de 1.05 para PP < 28 semanas; 1.93, entre 28 e 30 semanas; 1.95, entre 31 e 33 semanas e 1.44, entre 34 e 36 semanas²⁹.

El cérvix con una longitud menor a 2.5cm, fue demostrado como un factor de riesgo para PP, cuando se realiza ultrasonido vía vaginal entre las 18 a 25 semanas, por tanto, justifica su realización en pacientes de bajo y alto riesgo⁵⁶. En conclusión, la longitud cervical, valorada en segundo trimestre está relacionada con PP

El antecedente de PP, es un factor de riesgo para PP comparado con PA, tanto en OR bruto y ajustado, aunque con IC amplios. La historia de PP previo es un importante predictor en las próximas gestaciones, ya confirmado por Esplin et al, 2008⁵⁷, en nuestro estudio este riesgo fue elevado para uno o dos PP anteriores. En conclusión, el antecedente de PP es un fuerte predictor de esta patología.

La VB, presenta un OR menor de 1 al comparar PP con PA. En una revisión sistemática realizada por Haar et al.,2016 en la cual se analizó el resultado de los estudios publicados, desde 1999 al 2014 no se encontró significancia en reducción del riesgo de PP al tratar a las pacientes diagnosticadas de VB, en grupos de bajo y alto riesgo, antes o después de las 20 semanas⁵⁸.

En un estudio de Brabant en 2016, para determinar si la VB es un factor de riesgo para PP espontáneo y si el tratamiento de esta patología disminuye el riesgo, se encontró que el tamizaje y tratamiento de VB durante la gestación, en población asintomática de bajo riesgo no es recomendada; y en la población de alto riesgo, con el simple conocimiento de antecedente PP, el tamizaje y tratamiento de la patología tampoco está recomendado⁵⁹. En conclusión, la VB incrementa el riesgo de PP, pero su tratamiento no lo disminuye, nosotros no encontramos elevación del riesgo probablemente por una respuesta genéticamente distinta a la VB.

La ITU al comparar PP con PA no hay diferencia al obtener el OR crudo, al realizar ajuste el OR se torna significativo al analizar MMP-2 en plasma y MMP-9 en secreción vaginal. El estudio de Sheiner et al, 2009, con más de 100000 pacientes 2,5%, presentaron bacteriuria asintomática, de ellos el 13,3% tuvieron PP en relación al 7,6% de las pacientes sin la patología OR 1.9 IC 95% (1.7 – 2.0)⁶⁰.

Un estudio de meta análisis de Romero et al, 1989 que valoró estudios de cohorte, encontró que la bacteriuria asintomática incrementa el riesgo de PP y bajo peso al nacer⁶¹. En definitiva, la ITU es un factor de riesgo para PP, la falta de significancia puede deberse al tamaño de la muestra.

Por tanto, podemos definir que niveles elevados de MMP-9 en plasma, y niveles bajos de MMP-2 en plasma están relacionados con PP, el antecedente de PP, el hábito de fumar, la ITU, la longitud de cérvix < 2.5cm incrementan el riesgo de PP y por último las MMP-2 y 9 por sí solas no pueden utilizarse como test predictivo para PP.

Referencias Bibliográficas:

1. American College of Obstetricians and Gynecologists. Management of Preterm Labor. Practice Bulletin No. 171. *Obstet Gynecol.* 2016;128(4):e155–164.
2. Beck S, Wojdyla D, Say L, Betran AP, Merialdi M, Harris J, Rubens C, Menon R, Van Look P. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bull World Health Organ.* 2010;88:31–38.
3. Mendoza LA, Claros DI, Mendoza LI, Arias MD, Peñaranda CB. Epidemiología de la prematuridad, sus determinantes y prevención del parto prematuro. *Rev Chil Obstet Ginecol.* 2016; 81(4):330 – 342.
4. Mendes JA, Machado WR, Kalume AG, Cortez-Escalante JJ, Machado de Rezende LF, Matijasevich A. Mortality on the first day of life: trends, causes of death and avoidability in eight Brazilian Federative Units, between 2010 and 2015. *Epidemiol Serv Saude Brasília.* 2019;28(1):01-11.
5. Frey HA, Klevanoff MA. The epidemiology, etiology, and costs of preterm birth. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine.* 2016;1-6.
6. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet.* 2008;371:75–84.

7. Esplin MS. Overview of Spontaneous Preterm Birth: A Complex and Multifactorial Phenotype. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 2014;57(3):518–530.
8. Verma RP, Hansch C. “Matrix metalloproteinases (MMPs): chemicalbiological functions and (Q)SARs”. *Bioorg Med Chem*. 2007;15(6): 2223–2268.
9. Tokito A, Jougasaki M. Matrix Metalloproteinases in Non-Neoplastic Disorders. *Int J Mol Sci*. 2016;1178(17):2-29.
10. Visse R, Nagase H. Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases Structure, Function, and Biochemistry. *Circ Res*. 2003;92:827-839.
11. Sankari SL, Krupaa RJ, Kailash Kumar GM, Balachander N. MMP- Matrix Metalloproteinase. *Biomedical & Pharmacology Journal*. 2016;9(2):885-888.
12. Nagase H, Woessner F. Matrix Metalloproteinases. *The Journal of Biological Chemistry*. 1999;274(31):21491–21494.
13. Allan JA, Docherty AJ, Barker PJ, Huskisson NS, Reynolds JJ, Murphy G. Binding of gelatinases A and B to type-I collagen and other matrix components. *Biochem J*. 1995;309:299–306.
14. Aimes RT, Quigley JP. Matrix metalloproteinase-2 is an interstitial collagenase: inhibitor-free enzyme catalyzes the cleavage of collagen fibrils and soluble native type I collagen generating the specific 3/4- and 1/4-length fragments. *J Biol Chem*. 1995;270:5872–5876.
15. Itoh T, Ikeda T, Gomi H, Nakao S, Suzuki T, Itohara S. Unaltered secretion of -amyloid precursor protein in gelatinase A (matrix metalloproteinase 2)-deficient mice. *J Biol Chem*. 1997;272:22389–22392.

16. Vadillo-Ortega F, Estrada-Gutiérrez G. Role of matrix metalloproteinases in preterm labor. *International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2005;112(1):19–22.
17. Winkler M, Rath W. Changes in the cervical extracellular matrix during pregnancy and parturition. *J Perinat Med*. 1999;27:45-61.
18. Choi SJ, Oh SY, Kim JH, Roh CR. Changes of nuclear factor kappa B (NF- κ B), cyclooxygenase-2 (COX-2) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in human myometrium before and during term labor. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2007;132(2):182-188.
19. Xu P, Alfaidy N, Challis JR. Expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 in human placenta and fetal membranes in relation to preterm and term labor. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(3):1353–1361.
20. Nugent RP; Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *Journal Clinical Microbiology*. 1991;29(2):297-301.
21. Honest H, Bachmann LM, Knox EM, Gupta J K, Kleijnen J, Khan KS. The accuracy of various tests for bacterial vaginosis in predicting preterm birth: a systematic review. *An International Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2004;111(5):409-422.
22. Klebanoff MA, Hillier SL, Nugent RP, Macpherson CA, Hauth JC, Carey JC. et al. Is bacterial vaginosis a stronger risk factor for preterm birth when it diagnosed earlier in gestation? *American Journal Obstetric and Gynecology*. 2005;192(2):470-477.
23. Becher N, Hein M, Danielsen CC, Uldbjerg N. Matrix metalloproteinases in the cervical mucus plug in relation to gestational age, plug compartment, and preterm labor. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2010;113(8):2-9.

24. Lemancewicz A, Laudański P, Kuc P, Pierzyński P, Krętowska M, Urban J. Matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 urine levels in preterm labouring patients. *Archives of Perinatal Medicine*. 2007;13(2):50-52.
25. Reyna-Villasmil E, Mejia-Montilla J, Reyna-Villasmil N, Torres-Cepeda DJ, Santos-Bolívar J, Rondón-Tapia M, Fernández-Ramírez A. Metaloproteínasa de la matriz 9 cervicovaginal en el segundo trimestre para la predicción de parto pretérmino. *Perinatología y Reproducción Humana*. 2017;31(1):10-15.
26. McNair RD, Macdonald SR, Dooley SL, Peterson LR. Evaluation of the centrifuged and gram-stained smear, urinalysis, and reagent strip testing to detect asymptomatic bacteriuria in obstetric patients. *American Journal Obstetric and Gynecology*. 2000;182(5):1076-1079.
27. Koucky M, Germanova A, Kalousova M, Hill M, Cindrova-Davies T, Parizek A, Svarcova J, Zima T, Hajek Z. Low maternal serum matrix metalloproteinase (MMP)-2 concentrations are associated with preterm labor and fetal inflammatory response. *Journal of Perinatal Medicine*. 2010;38:589-596.
28. Sorokin Y, Romero R, Mele L, Wapner RJ, Iams JD, Dudley DJ, Spong CY, Peaceman AM, Leveno KJ, Harper M, Caritis SN, Miodovnik M, Mercer BM, Thorp JM, O'Sullivan MJ, Ramin SM, Carpenter MW, Rouse DJ, Sibai B, Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Maternal Fetal Medicine Units Network. Maternal serum interleukin-6, c-reactive protein, and matrix metalloproteinase-9 concentrations as risk factors for preterm birth < 32 weeks and adverse neonatal outcomes. *American Journal Perinatology*. 2010;27(8):631–640.
29. Celik E, To M, Gajewska K, Smith GC, Nicolaides KH. Fetal Medicine Foundation Second Trimester Screening Group. Cervical length and obstetric history predict spontaneous preterm birth: development and validation of a model to provide individualized risk assessment. *Ultrasound Obstetric and Gynecology* 2008;31(5):549-554.

30. Goldman S, Weiss A, Eyali V, Shalev E. Differential activity of the gelatinases (matrix metalloproteinases 2 and 9 in the fetal membranes and decidua, associated with labour. *Mol Hum Reprod.* 2003;9: 367–373.
31. Maymon E, Romero R, Pacora P, Gervasi MT, Gomez R, Edwin SS, Yoon BH. Evidence of in vivo differential bioavailability of the active forms of matrix metalloproteinases 9 and 2 in parturition, spontaneous rupture of membranes, and intra-amniotic infection. *American Journal Obstetrics and Gynecology.* 2000;183:887-894.
32. Lee SM, Park KH, Jung EY, Soo-Hyun C, Ryu A. Prediction of spontaneous preterm birth in women with cervical insufficiency: Comprehensive analysis of multiple proteins in amniotic fluid. *The Journal Obstetrics and Gynaecology Research.* 2016;1-8.
33. Zaga-Clavellina V, Lopez GG, Estrada-Gutierrez G, Martinez-Flores A, Maida-Claros R, Beltran-Montoya J, et al. Incubation of human chorioamniotic membranes with *Candida albicans* induces differential synthesis and secretion of interleukin-1b, interleukin-6, prostaglandin E, and 92 kDa type IV collagenase. *Mycoses.* 2006;49:6–13.
34. Zaga-Clavellina V, Garcia-Lopez G, Flores-Herrera H, Espejel-Nunez A, Flores-Pliego A, Soriano-Becerril D, et al. In vitro secretion profiles of interleukin (IL)-1b, IL-6, IL-8, IL-10, and TNFa after selective infection with *Escherichia coli* in human fetal membranes. *Reprod Biol Endocrinol.* 2007;13:5–46.
35. Romero R, Roslansky P, Oyarzun E, Wan M, Emamian M, Novitsky TJ, et al. Labor and infection. Bacterial endotoxin in amniotic fluid and its relationship to the onset of preterm labor. *Am J Obstet Gynecol.* 1988;158:1044–1049.
36. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med.* 2000;342:1500–1507.

37. Zaga V, Estrada-Gutierrez G, Beltran-Montoya J, Maida-Claros R, Lopez-Vancell R, Vadillo-Ortega F. Secretions of interleukin-1b and tumor necrosis factor a by whole fetal membranes depend on initial interactions of amnion or choriodecidua with lipopolysaccharides or group B streptococci. *Biol Reprod.* 2004;71:1296–1302.
38. Thiex NW, Chames MC, Loch-Caruso RK. Tissue-specific induction of COX-2 and prostaglandins in lipopolysaccharide-stimulated extraplacental human gestational membranes in a 2-chamber transwell culture system. *Reprod Sci.* 2010;17:1120–1129.
39. Makrakis E, Grigoriou O, Kouskouni E, Vitoratos N, Salamalekis E, Chatzoudi E, Creatsas G. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in plasma/serum and urine of women during term and threatened preterm labor: a clinical approach *The Journal of Maternal–Fetal and Neonatal Medicine.* 2003;14:170-176.
40. Pineda-Torres M, Flores-Espinosa P, Espejel-Nunez A, Estrada-Gutierrez G, Flores-Pliego A, Maida-Claros R, Zaga-Clavellina V. Evidence of an immunosuppressive effect of progesterone upon in vitro secretion of proinflammatory and prodegradative factors in a model of choriodecidual infection. *International Journal of Obstetrics & Gynaecology.* 2015;122:1798–1807.
41. Ferrand PE, Parry S, Sammel M, et al. A polymorphism in the matrix metalloproteinase-9 promoter is associated with increased risk of preterm premature rupture of membranes in African Americans. *Molecular Human Reproduction.* 2012;8(5):494–501.
42. Fang X, Li H, Diao Y, et al. Polymorphisms in the MTHRF, VDR, MMP-9 and IL- β genes and the risk of premature rupture of membranes. *Gynecologic and Obstetric Investigation* 2010;70(3):206–214.
43. Jones NM, Holzman C, Tian et al. Y. Innate immune system gene polymorphisms in maternal and child genotype and risk of preterm delivery. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine.* 2012;25(3):240–247.

44. Mendelson CR. Minireview: fetal-maternal hormonal signaling in pregnancy and labor. *Mol Endocrinol.* 2009;23:947–954.
45. Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK, Windsor LJ, Birkedal-Hansen B, DeCarlo A, et al. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1993;4:197-250.
46. Woessner JF Jr. The family of matrix metalloproteinases. *Ann N Y Acad Sci.* 1994;732:11-21.
47. Grammatopoulos DK. The role of CRH receptors and their agonists in myometrial contractility and quiescence during pregnancy and labor. *Front Biosci.* 2007;12:561–571.
48. Goldman S, Weiss A, Shalev E. The effect of progesterone on gelatinase expression in the decidua and fetal membranes before and after contractions. *American Journal of Obstetrics & Gynecology.* 2007;197:521.e1–7.
49. Caritis SN, Hankins G, Hebert M, Haas DM, Ahmed M, Simhan H, Haneline LA, Harris J, Chang J, Stephenson A, Yorio P, Ren Z, D’Alton ME, Venkataramanan R. Impact of Pregnancy History and 17-Hydroxyprogesterone Caproate on Cervical Cytokines and Matrix Metalloproteinases. *American Journal of Perinatology.* 2018;35(5):470-480.
50. Fernandes Moron A, Leizer J, Minis E, Hatanaka A, Santucci M, Sarmento S, Mattar R, Bongiovanni AM, Sabino E, Vicira Rudge M, Segurado A, Linhares IM, Witkin SS. D-lactic Acid and Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2) levels in vaginal secretions predict cervical length in mid-trimester pregnant women. *American Journal Obstetrics and Gynecology.* 2017;385:s231-323.
51. Gravena AF, Paula MG, Marcon SS, Carvalho MD, Pelloso SM. Idade materna e fatores associados a resultados perinatais. *Acta Paul Enferm.* 2013;26(2):130-135.

52. Bezerra LC, Oliveira SM, Latorre DO. Prevalência e fatores associados à prematuridade entre gestantes submetidas à inibição de trabalho de parto prematuro. *Revista Brasileira Materno Infantil*. 2006;6(2):113-119.
53. Grantz KL, Hinkle SN, Mendola P, Sjaarda LA, Leisher K, Albert PS. Differences in risk factors for recurrent versus incident preterm delivery. *American Journal Epidemiology*. 2015;182(2):157-167.
54. Wong LF, Wilkes J, Korgenski K, Varner MW, Manuck TA. Risk factors associated with preterm birth after a prior term delivery. *International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2016;123(11):1772–1778.
55. Findley J, Seybold DJ, Broce M, Yadav D, Calhoun BC. Transvaginal cervical length and tobacco use in appalachian women: association with increased risk for spontaneous preterm birth. *W V Med J*. 2015;111(3):22–28.
56. Orzechowski KM, Boelig RC, Berghella V. Cervical length screening in asymptomatic women at high risk and low risk for spontaneous preterm birth. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 2016;59(2),241–251.
57. Esplin MS, O'Brien E, Fraser A, Kerber RA, Clark E, Simonsen SE, Holmgren C, Mineau GP, Varner MW. Estimating recurrence of spontaneous preterm delivery. *Obstet Gynecol*. 2008;112(3):516-523.
58. Haahr T, Ersbøll AS, Karlsen MA, Svare J, Sneider K, Hee L, et al. Treatment of bacterial vaginosis in pregnancy in order to reduce the risk of spontaneous preterm delivery – a clinical recommendation. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2016.
59. Brabant G. Bacterial vaginosis and spontaneous preterm birth. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*. 2016;45:1247-1260.

60. Sheiner E, Mazor-Drey E, Levy A. Asymptomatic bacteriuria during pregnancy. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009;22(5):423-427.
61. Romero R, Sirtori M, Oyarzun E, et al. Infection and labor: prevalence, microbiology and clinical significance of intraamniotic infection in women with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1989;161(3):817-824.