



Reimpresión\*

## La interacción de las células inmunológicas coriodeciduales con estreptococo del grupo B condiciona la degradación del tejido conectivo del corioamnios

Guadalupe Estrada Gutiérrez, \*\* Raquel Reyes Trejo, \*\* Rolando Maida Claros, \*\*\* Jorge Beltrán Montoya, \*\*\*\* Felipe Vadillo Ortega\*\*

### RESUMEN

**Objetivo:** identificar si los productos solubles de las células inmunológicas coriodeciduales inducen la degradación del tejido conectivo de las membranas corioamnióticas en respuesta a la infección por estreptococo del grupo B (EGB).

**Material y métodos:** estudio experimental, analítico, longitudinal y prospectivo. Se colectó sangre coriodecidual por drenado de los cotiledones de la placenta y se dividió en dos alícuotas: una se estimuló con  $1 \times 10^6$  UFC/mL de EGB y la otra se mantuvo libre de bacterias. Después de incubar los plasmas durante 12 horas a 37°C, se separaron, filtraron y agregaron a cultivos de explantes de membranas corioamnióticas durante 12 horas, a 37°C, en 5% de CO<sub>2</sub>. En los sobrenadantes se cuantificó MMP-9 por zimografía e IL-1β y TNF-α por ELISA. En los explantes se observó la distribución de las fibras de colágena por microscopía electrónica. Se hicieron tres experimentos por triplicado y se analizaron con la prueba ANOVA.

**Resultados:** la producción de MMP-9, IL-1β y TNF-α fue significativamente más alta en los sobrenadantes de los explantes cocultivados con cocultivos con plasma coriodecidual proveniente de sangre preincubada con EGB, que en los cocultivos con los plasmas control. Los explantes cocultivados con los plasmas infectados mostraron mayor degradación del tejido conectivo que los incubados con los plasmas control.

**Conclusiones:** el plasma coriodecidual que proviene de la sangre estimulada con EGB contiene señales bioquímicas que inducen la producción de MMP-9, IL-1β y TNF-α por las membranas corioamnióticas. Los resultados sugieren que las células inmunológicas coriodeciduales son capaces de responder a la infección local por estreptococo del grupo B, lo que ocasiona la degradación de la matriz extracelular de las membranas corioamnióticas y favorece su rotura.

**Palabras clave:** explantes de membranas corioamnióticas, plasma, microambiente coriodecidual, estreptococo del grupo B, degradación de tejido conectivo.

### ABSTRACT

**Objective:** To identify whether soluble products from choriodecidual blood cells stimulated with group B streptococci (GBS) induce connective tissue degradation in human amniochorion.

**Material and methods:** Blood samples from choriodecidual compartment were collected by direct aspiration from placental cotyledons draining blood and represent local circulating cells. Samples were divided into two aliquots: one was stimulated with GBS ( $1 \times 10^6$  CFU/mL) and the other was kept free of bacteria as negative control. After overnight incubation, plasmas were separated. Chorioamnion explants were stimulated with 10% plasma for 12h at 37°C in 5% CO<sub>2</sub>. MMP-9 proteolytic activity was measured in the supernatants by gelatin-zymography and IL-1β and TNF-α were quantified by ELISA. Distribution of the collagenous fibrils in explants was examined by electron microscopy. Statistical analysis: three independent experiments on duplicate were carried out and the statistical significance of experimental differences between groups was assessed with ANOVA test.

**Results:** MMP-9, IL-1β and TNF-α production was significantly higher in supernatants from explants co-cultured with choriodecidual plasma from blood previously infected with GBS, compared with control plasma. Accompanying extensive changes of connective tissue arrangement confirm induction of extracellular matrix degradation.

**Conclusions:** Choriodecidual plasma from blood stimulated with GBS is enriched with biochemical signals that enhance the MMP-9, IL-1α and TNF-β production by amniochorion. These findings suggest that local circulating cells are capable to act in response to GBS choriodecidual infection through extracellular matrix degradation and the consequent rupture of membranes.

**Key words:** amniochorion, plasma, choriodecidual compartment, group B streptococci, connective tissue degradation.

## RÉSUMÉ

**Objectif :** identifier si les produits solubles des cellules immunologiques chorio-déciduaux induisent la dégradation du tissu connectif des membranes chorio-amniotiques en réponse à l'infection par streptocoque du groupe B (EGB).

**Type d'étude :** expérimentale, analytique, longitudinale et prospective.

**Matériel et méthodes :** on a récolté du sang chorio-décidual par drainage des cotylédons du placenta et on l'a divisé en deux aliquotes : une s'est fait stimuler avec  $1 \times 10^6$  UFC/mL de EGB et l'autre s'est gardée libre de bactéries. Après l'incubation des plasmas pendant 12 heures à 37°C, on les a séparés et filtrés et on les a ajoutés aux cultures d'explants de membranes chorio-amniotiques par 12 heures, à 37°C, en 5% de CO<sub>2</sub>. On a quantifié dans les surnageants MMP-9 par zymographie et IL-1β et TNF-α par ELISA. Dans les explants on a observé la distribution des fibres de collagène par microscopie électronique. On a réalisé trois expériences par triplicata et on les a analysées avec le test ANOVA.

**Résultats :** la production de MMP-9, IL-1β et TNF-α a été significativement plus haute dans les surnageants des cocultures avec plasma chorio-décidual quand le sang s'est incubé préalablement avec EGB, que dans les plasmas contrôle. Les explants cocultivés avec les plasmas infectés ont montré une dégradation majeure du tissu connectif que ceux incubés avec les plasmas contrôle.

**Conclusions :** le plasma chorio-décidual qui vient du sang stimulé avec EGB contient des signaux biochimiques qui induisent la production de MMP-9, IL-1β et TNF-α par les membranes chorio-amniotiques. Les résultats suggèrent que les cellules immunologiques chorio-déciduaux sont capables de répondre à l'infection locale par EGB, ce qui mène à la dégradation de la matrice extracellulaire des membranes chorio-amniotiques et favorise sa rupture.

**Mots-clé :** explants de membranes chorio-amniotiques, plasma, micro-ambiance chorio-déciduale, streptocoque du groupe B, dégradation du tissu connectif.

## RESUMO

**Objetivo:** identificar se os produtos solúveis das células imunológicas coriodeciduais induzem a degradação do tecido conetivo das membranas carioamnióticas como resposta à infecção por estreptococo do grupo B (EGB).

**Material e métodos:** estudo experimental analítico, longitudinal e prospectivo. Coletou-se sangue coriodecidual por drenado dos cotilédones da placenta e foi dividido em duas partes iguais: uma foi estimulada com  $1 \times 10^6$  UFC/mL de EGB e a outra manteve-se livre de bactérias. Depois de incubar os plasmas durante 12 horas a 37°C, isolaram-se, filtraram-se e adicionaram-se a cultivos de explantes de membranas corioamnióticas durante 12 horas a 37°C, em 5% de CO<sub>2</sub>. Nos sobrenadantes quantificou-se MMP-9 por zimografia e IL-1β e TNF-α por ELISA. Nos explantes percebeu-se a distribuição das fibras de colágeno por microscopia eletrónica. Realizaram-se três experimentos por triplicado e foram analisados com o teste ANOVA.

**Resultados:** a produção de MMP-9, IL-1β e TNF-α foi significativamente maior nos sobrenadantes dos explantes co-cultivados com plasma coriodecidual que provinham de sangue pre-incubado com EGB, do que nos co-cultivos com os plasmas controle. Os explantes co-cultivados com os plasmas infectados mostraram maior degradação do tecido conetivo do que aqueles incubados com os plasmas controle.

**Conclusões:** o plasma coriodecidual que provinha do sangue estimulado com EGB contém sinais bioquímicos que induzem à produção de MMP-9, IL-1β e TNF-α pelas membranas corioamnióticas. Os resultados sugerem que as células imunológicas coriodeciduais podem responder à infecção local por estreptococo do grupo B, o que produz a degradação da matriz extra-cellular das membranas carioamnióticas e favorece a sua ruptura.

**Palavras chave:** explantes de membranas corioamnióticas, plasma, micro-ambiente coriodecidual, estreptococo do grupo B, degradação do tecido conetivo.

\* Por un error en la edición de este artículo (publicado en el volumen 72, núm. 12), que de alguna manera alteró las ideas que sus autores deseaban transmitir, en esta oportunidad se reimprime con las enmiendas señaladas por los autores.

\*\* Dirección de Investigación.

\*\*\* Unidad de cuidados inmediatos al recién nacido.

\*\*\*\* Departamento de Tococirugía y Urgencias.

Instituto Nacional de Perinatología, SSA.

Correspondencia: Dr. Felipe Vadillo Ortega. Instituto Nacional de Perinatología. Dirección de Investigación. Montes Urales 800, Lomas Virreyes, México, DF, CP 11000, Tel.: 5202-9381. Fax: 5520-0034.

E-mail: fvadillo@servidor.inper.edu.mx y felipe.vadillo@uia.mx

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: [www.revistasmedicasmexicanas.com.mx](http://www.revistasmedicasmexicanas.com.mx)

**E**l parto pretérmino (PPT) afecta del 10 al 12% de todos los nacimientos en México, es responsable de al menos 70% de los casos de muerte neonatal y su tasa de mortalidad global oscila entre 25 y 50%, según los recursos con que se cuente para su atención.<sup>1</sup> Al no conocerse a fondo las causas que lo desencadenan, las acciones se enfocan a la identificación de los factores de predisposición para intervenir de manera oportuna.

La enfermedad con que se le relaciona más a menudo es la rotura prematura de membranas, puesto que es la responsable del 30% de los partos pretérmino.<sup>1</sup>

Uno de los factores de riesgo más implicados en la rotura prematura de membranas es la infección local por diferentes microorganismos, como *Ureaplasma urealyticum* y estreptococo del grupo B (EGB), entre otros.<sup>2,3</sup>

Es muy frecuente que en la mujer embarazada haya incremento del flujo transvaginal y secreción cervical como consecuencia de los cambios hormonales normales de la gestación, por lo que en ocasiones no se sospecha la existencia de infección focal, lo que es común cuando no hay síntomas o no se explora a la paciente. Esto eleva el riesgo de complicaciones en la etapa perinatal, ya que la infección cervical puede progresar hasta convertirse en infección intraamniótica.

El ascenso a través del canal del parto parece ser la vía más común de las bacterias para ingresar a la cavidad amniótica, pues los gérmenes encontrados en el líquido amniótico son los mismos que se encuentran en el conducto vaginal.<sup>3,4</sup> Se considera que la llegada de los microorganismos o productos bacterianos al entorno de las membranas desencadena una respuesta primaria, la cual consiste en secreción de IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$  por neutrófilos y macrófagos, los cuales no solamente estimulan a otras células inmunológicas, sino que promueven a las células nativas del tejido a secretar otros compuestos que constituyen la segunda oleada de señales y efectores moleculares. Entre los compuestos que aparecen como parte de esta segunda oleada están las prostaglandinas, citocinas, como IL-6, IL-8, IL-10, cantidades adicionales de IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$  y metaloproteasas de matriz extracelular, en especial MMP-9.<sup>5,6</sup>

La MMP-9 actúa en la colágena de tipo IV y V, la elastina y la fibronectina de las membranas corioamnióticas y se ha detectado en el amnios, el corion y la decidua, por lo que se cree que es importante en los procesos de remodelación de la matriz extracelular de dichas estructuras.<sup>7</sup> La elevación de la MMP-9 reduce la fuerza tensil de las membranas y se sabe que interviene tanto en el fenómeno natural de rotura durante el trabajo de parto como en la rotura prematura de membranas.<sup>8,9</sup> La MMP-9 también se encuentra aumentada en el líquido amniótico de pacientes con infección cervicovaginal, lo que la convierte, además de mediadora del proceso, en un marcador bioquímico con utilidad clínica para distinguir la infección intraamniótica y eventualmente

en un elemento de predicción de parto pretérmino o rotura prematura de membranas.<sup>10</sup>

Los modelos de infección coriodecidual en primates muestran que el estreptococo del grupo B es capaz de inducir la síntesis local de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  y MMP-9,<sup>6,11</sup> lo que se complementa con los experimentos con membranas corioamnióticas en cultivo que se estimulan con la misma bacteria y que responden incrementando la síntesis, secreción y actividad de MMP-9.<sup>12</sup>

Se sugiere que la activación de las células de la respuesta inmunológica local, por efecto del EGB, inicia un episodio de tipo inflamatorio que se distingue por la secreción de diversas citocinas, entre ellas IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ .<sup>12</sup> Estas citocinas, a su vez, son capaces de inducir la expresión de la MMP-9 en el corioamnios,<sup>13,14</sup> cuya producción y activación se considera un episodio central para que ocurra la degradación de la matriz extracelular de las membranas corioamnióticas y, por lo tanto, su rotura en condiciones fisiológicas o patológicas. Por lo anterior, este estudio se diseñó para identificar si las células inmunológicas circulantes en el microambiente que rodea a las membranas fetales son capaces de responder al estímulo infeccioso e inducir una respuesta que provoque la rotura de las mismas.

## OBJETIVO

Identificar si los productos solubles de las células inmunológicas circulantes en el microambiente coriodecidual son capaces de inducir la degradación del tejido conectivo de las membranas corioamnióticas humanas, en respuesta a la infección por estreptococo del grupo B.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se diseñó un modelo *in vitro* para cocultivar explantes de membranas corioamnióticas con plasmas provenientes de sangre coriodecidual, estimulada o no con estreptococo del grupo B.

### Procesamiento y cultivo de las membranas corioamnióticas

Se escogieron membranas corioamnióticas de mujeres con embarazo normal a término, resuelto por cesárea

en ausencia de trabajo de parto, sin enfermedad y sin infección.

Los cultivos del tejido se hicieron de acuerdo con el procedimiento reportado.<sup>13</sup> En el quirófano, después de tomar muestras para su análisis microbiológico, se procedió a cortar las membranas fetales y transportarlas al laboratorio en medio DMEM con antibiótico-antimicótico al 1% (GIBCO-BRL). Las membranas se lavaron con solución salina fisiológica para eliminar los restos de sangre y, con ayuda de un sacabocados, se cortaron explantes de 1 cm de diámetro que se colocaron en placas de 24 pozos con 1 mL de DMEM suplementado con suero fetal bovino (10%), piruvato de sodio (1%) y antibiótico-antimicótico (1%) (GIBCO-BRL). Los cultivos se incubaron a 37°C, en 5% de CO<sub>2</sub>, durante 48 horas. Al cabo de este tiempo se cambió el medio por 1 mL de DMEM, en el cual el suero fetal bovino se sustituyó por hidrolizado de lactoalbúmina (166.5 g/L). Después de una incubación de 24 horas, el sobrenadante se sustituyó por 900 µL de medio fresco y se procedió a la estimulación con los plasmas.

#### **Obtención de los productos solubles de las células inmunológicas coriodeciduales estimuladas con estreptococo del grupo B**

Se tomaron muestras de sangre coriodecidual de mujeres con trabajo de parto espontáneo a término, sin enfermedad y sin infección. Se colectaron 15 mL de la sangre que drena de los cotiledones de la placenta, con lo que se obtuvo una población representativa de células circulantes en el microambiente coriodecidual. Las muestras se dividieron en tres alícuotas de 5 mL: una se utilizó para hacer un hemocultivo y asegurarse que la sangre no estuviera previamente infectada, otra se estimuló con 1 x 10<sup>6</sup> UFC de EGB/mL de sangre y la otra no se infectó para utilizarse como control. Los tubos con la sangre con y sin bacterias se incubaron durante 24 horas, a 37°C. Después de ese tiempo se separaron los plasmas por centrifugación a 1,500 rpm durante 10 minutos; se filtraron a través de una membrana de 0.22 µ para eliminar las bacterias y se congelaron a -70°C hasta el momento de su uso.

#### **Cocultivo explantes-plasma**

Los explantes se estimularon al 10% con los diferentes plasmas. El cocultivo se hizo con 900 µL de medio más

100 µL del plasma correspondiente y se incubaron durante 12 horas, a 37°C, en 5% de CO<sub>2</sub>. Esta concentración se eligió después de haber probado con 5, 10, 15 y 20% de plasma (datos no mostrados).

Una vez transcurrido el tiempo de incubación se aspiraron los sobrenadantes para determinar la concentración de proteínas por el método de Bradford y cuantificar la actividad de la MMP-9 y la producción de IL-1β y TNF-α por los explantes ante el estímulo con los plasmas. Los explantes se fijaron en 1 mL de glutaraldehido y se procesaron de acuerdo con la técnica estándar para observación de tejido animal por microscopía electrónica.

#### **Actividad de MMP-9**

La actividad de la MMP-9 se determinó mediante zimografía con el uso de geles de poliacrilamida al 8% con gelatina porcina como sustrato de la enzima de acuerdo con la técnica descrita.<sup>8</sup> Se usaron como controles los valores del sobrenadante de los explantes sin estimular y el de los plasmas de sangre infectada y sin infectar para determinar la cantidad real de la enzima producida por la estimulación plasma-explante.

#### **Cuantificación de IL-1β y TNF-α**

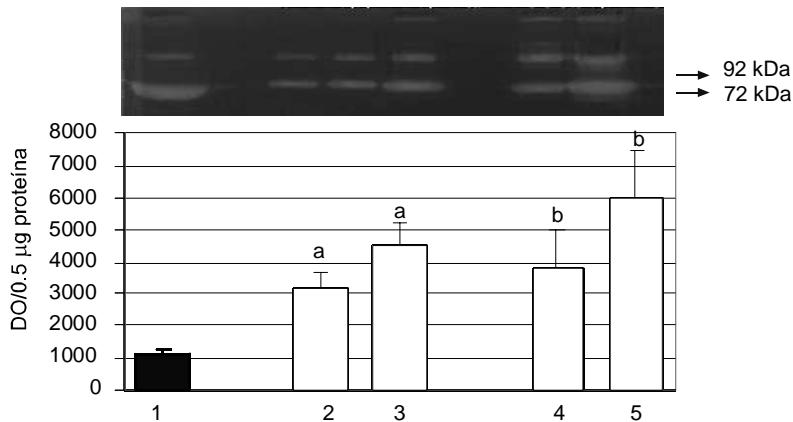
La producción de ambas citocinas se determinó con ensayos de ELISA tipo sandwich, utilizando un anticuerpo monoclonal de captura y otro policlonal biotinilado (R&D systems) siguiendo las recomendaciones del fabricante. Se utilizaron los mismos controles que para la MMP-9.

#### **Análisis estadístico**

Se hicieron tres experimentos independientes por duplicado (tres membranas diferentes con tres plasmas diferentes). Los resultados obtenidos se expresaron como promedio ± desviación estándar y se compararon con la prueba de ANOVA. Se aceptó una p ≤ 0.05 para establecer diferencias significativas entre grupos.

## **RESULTADOS**

La zimografía para MMP-9 (figura 1) reveló que los explantes solos tuvieron una producción basal de esta



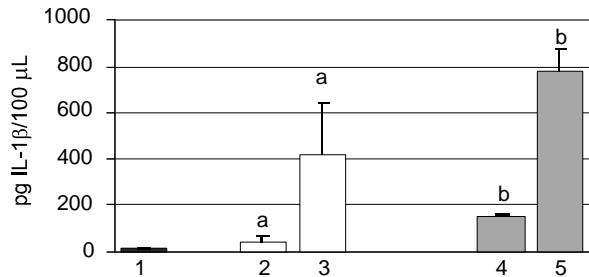
**Figura 1.** Actividad de MMP-9 por zimografía. La MMP-9 se visualiza como una banda clara de degradación de 92 kDa. Las barras expresan el valor de 3 experimentos independientes por duplicado y se muestra un gel representativo. 1) Explante solo, 2) plasma sin EGB, 3) plasma con EGB, 4) explante + plasma sin EGB y 5) explante + plasma con EGB. Las barras 4 y 5 tienen restados los valores de sus respectivos controles. Las diferencias significativas se muestran con las letras correspondientes: a) p=0.01 y b) p=0.008

enzima mucho menor en comparación con los controles de los plasmas, en los cuales se encontró aumento significativo de MMP-9 cuando la sangre se infectó con estreptococo del grupo B, en comparación con los controles sin infectar ( $p = 0.01$ ). Del mismo modo, los explantes estimulados con el plasma de la sangre que fue previamente infectada con EGB produjeron más enzimas que los que se estimularon con plasmas sin contacto previo con la bacteria ( $p = 0.008$ ).

Los ensayos de ELISA para IL-1 $\beta$  (figura 2) demostraron que los explantes solos producen trazas de esta citocina, mientras que en los controles de plasma se notó que a pesar de que no existe diferencia con significado estadístico en las cantidades de IL-1 $\beta$

( $p = 0.11$ ) hay una tendencia a aumentar en los plasmas de la sangre infectada con EGB, en comparación con los de la sangre sin infectar. Al comparar la concentración de IL-1 $\beta$  en el sobrenadante de los explantes estimulados con los plasmas de las muestras de sangre que estuvieron o no en contacto con la bacteria, los resultados demostraron un incremento significativo en la producción de esta citocina cuando hubo infección por EGB ( $p = 0.009$ ).

El perfil de producción de TNF- $\alpha$  (figura 3) fue similar al de IL-1 $\beta$ , aunque en este caso la diferencia entre los plasmas con y sin infectar sí fue significativa ( $p = 0.034$ ), al igual que la de los cocultivos ( $p = 0.029$ ).



**Figura 2.** Cuantificación de IL-1 $\beta$  por ELISA. Las barras expresan el valor de 3 experimentos independientes por duplicado. 1) explante solo, 2) plasma sin EGB, 3) plasma con EGB, 4) explante + plasma sin EGB y 5) explante + plasma con EGB. Las barras 4 y 5 tienen restados los valores de sus respectivos controles. Los valores de p se muestran con las letras correspondientes: a) p=0.11 y b) p=0.009.



**Figura 3.** Cuantificación de TNF- $\alpha$  por ELISA. Las barras expresan el valor de 3 experimentos independientes por duplicado. 1) explante solo, 2) plasma sin EGB, 3) plasma con EGB, 4) explante + plasma sin EGB y 5) explante + plasma con EGB. Las barras 4 y 5 tienen restados los valores de sus respectivos controles. Las diferencias significativas se muestran con las letras correspondientes: a) p=0.034 y b) p=0.029.

En la microscopía electrónica se observó que la distribución de las fibras de colágena en la capa compacta del amnios de los explantes incubados durante 24 horas sin estímulo era homogénea, sin material amorfo entre ellas, por lo que se observaron compactadas y con orientación definida (figura 4a). La red de bandas fibrosas se tornó laxa y los haces de colágena empezaron a separarse cuando la membrana se incubó con plasma de sangre sin infectar (figura 4b). Sin embargo, el mayor efecto se observó cuando los explantes se estimularon con el plasma coriodecidual que contenía productos de la infección por EGB, en los que se encontró pérdida de las fibras de colágena con formación de material amorfo entre ellas (figura 4c).

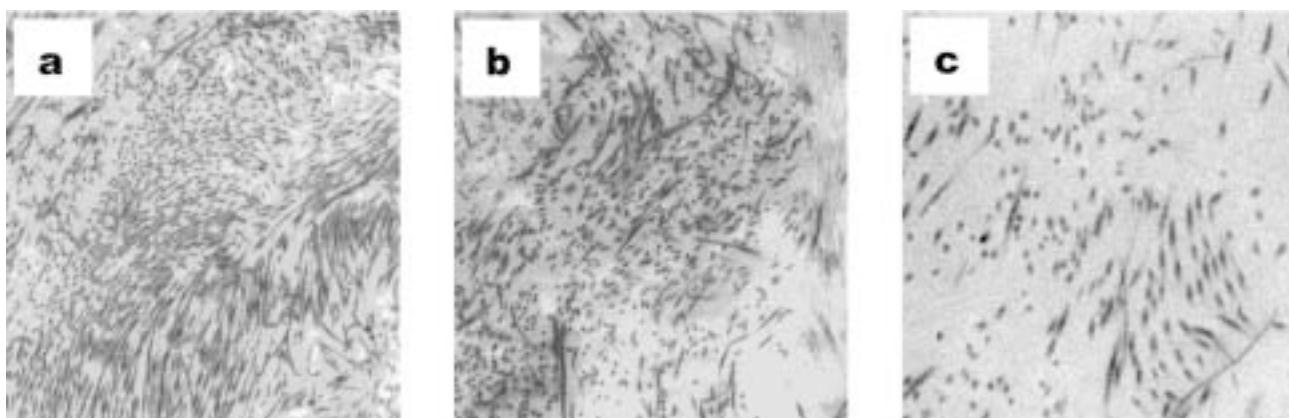
## DISCUSIÓN

En este trabajo se diseñó un modelo experimental *in vitro* para observar si se inducía la degradación del tejido conectivo de las membranas corioamnióticas al estimularlas con los productos solubles de las células inmunológicas presentes en la sangre coriodecidual infectada con EGB. Las membranas utilizadas en este modelo fueron de mujeres sin trabajo de parto, lo que permitió trabajar con membranas en condiciones basales, es decir, que todavía no empezaran los mecanismos normales de degradación del tejido conectivo que se llevan a cabo durante el mismo, puesto que éste era el efecto final que se iba a medir.

Por el contrario, las muestras de sangre que se utilizaron para obtener los plasmas provenían de mujeres con trabajo de parto, debido a que se esperaba que las células circulantes en el ambiente coriodecidual ya estuvieran programadas para inducir la degradación normal del corioamnios y que ésta se viera incrementada ante el estímulo infeccioso.

Los resultados indican que el plasma de la sangre coriodecidual de mujeres con trabajo de parto contiene señales bioquímicas con la capacidad de inducir la producción tanto de MMP-9 como de IL-1 $\beta$  y de TNF- $\alpha$  por el corioamnios. Sin embargo, la existencia de un agente infeccioso, como el EGB, fue capaz de estimular mayor producción de los tres marcadores por las células inmunológicas coriodeciduales, ya que sus concentraciones se encontraron aumentadas significativamente en los plasmas que se infectaron, en comparación con los controles sin infectar. Del mismo modo, la producción de los tres marcadores por los explantes se encontró incrementada cuando se incubaron con los plasmas que habían tenido contacto con el EGB.

La microscopía electrónica de la capa compacta del amnios demostró que al aumentar la producción de MMP-9, IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$  se incrementó la actividad colagenolítica, ya que al estar en contacto la membrana corioamniótica con el plasma de la sangre coriodecidual infectada con EGB se evidenció mayor degradación del tejido conectivo del corioamnios, manifestado por la pérdida de las fibras de colágena.



**Figura 4.** Microscopía electrónica de la capa compacta del amnios (12,000X). **a)** Control sin plasma, **b)** explante + plasma sin EGB y **c)** explante + plasma con EGB, todos después de 24 horas de incubación. Se puede observar cómo el plasma que proviene de la sangre coriodecidual infectada con EGB provocó pérdida de las fibras de colágena que dan la fuerza tensil a las membranas corioamnióticas.

Los modelos utilizados en otros trabajos para estudiar la degradación del corioamnios bajo condiciones de infección estimulan de forma directa a los explantes con la bacteria o su medio condicionado, lo que sólo muestra la respuesta del tejido a la infección.<sup>2,15</sup> La importancia del modelo expuesto en este trabajo es que demuestra que las células inmunológicas circulantes en la coriodecidua son capaces de mostrar una respuesta de degradación ante el estímulo infeccioso, lo que incrementa la destrucción del corioamnios. *In vivo*, lo anterior podría significar que la respuesta inmunológica a la infección es capaz de desencadenar en forma secundaria la rotura de las membranas fetales, por lo que es posible aceptar que los microorganismos en el entorno de las membranas fetales pueden inducir mecanismos que desembocan en rotura prematura de membranas.

La mejor comprensión de los procesos de señalización entre las células locales y las que llegan al entorno de la placenta y sus anexos, así como de los mediadores utilizados para comunicarse y coordinarse, permitirá eventualmente proponer terapias de intervención que permitan controlar el progreso hacia el nacimiento prematuro o hacia la rotura prematura de membranas.

## REFERENCIAS

1. Anuario estadístico 2001. Instituto Nacional de Perinatología.
2. Lamont RF, Anthony F, Myatt L, et al. Production of prostaglandin E2 by human amnion in vitro in response to addition of media conditioned by microorganisms associated with chorioamnionitis and preterm labor. Am J Obstet Gynecol 1990;162:819-25.
3. Romero R, Mazor M, Wu YK, et al. Infection in the pathogenesis of preterm labor. Semin Perinatol 1998;12:262-79.
4. Romero R, Mazor M. Infection and preterm labor. Clin Obstet Gynecol 1998;31:553-84.
5. Mitchell MD, Edwin S, Romero RJ. Prostaglandin biosynthesis by human decidual cells: effects of inflammatory mediators. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 1990;41:35-38.
6. Vadillo-Ortega F, Sadowsky DW, Haluska GJ, et al. Identification of matrix metalloproteinase-9 in amniotic fluid and amniochorion in spontaneous labor and after experimental intrauterine infection or interleukin-1b in pregnant rhesus monkeys. Am J Obstet Gynecol 2002;186:128-38.
7. Parry S, Strauss JF. Premature rupture of the fetal membranes. N Engl J Med 1998;338:663-70.
8. Vadillo OF, González AG, Furth EE, et al. 92-kD type IV collagenase (matrix metalloproteinase-9) activity in human amniochorion increases with labor. Am J Pathol 1995;146:148-56.
9. Vadillo OF, Hernández A, González AG, Bermejo L, Iwata K, Strauss JF. Increased matrix metalloproteinase activity and reduced tissue inhibitor of metalloproteinases-1 levels in amniotic fluids from pregnancies complicated by premature rupture of membranes. Am J Obstet Gynecol 1996;174:1371-6.
10. Fortunato SJ, Menon R, Lombardi SJ. Collagenolytic enzymes (gelatinases) and their inhibitors in human amniochorionic membrane. Am J Obstet Gynecol 1997;177:731-41.
11. Gravett MG, Witkin SS, Haluska GJ, et al. Novy MJ. An experimental model for intraamniotic infection and preterm labor in rhesus monkey. Am J Obstet Gynecol 1994;171:1660-7.
12. Zaga V, Estrada-Gutiérrez G, Beltrán-Montoya J, Maida-Claros R, López-Vancell R, Vadillo-Ortega F. Secretions of interleukin-1 beta and tumor necrosis factor alpha by whole fetal membranes depend on initial interactions of amnion or choriodecidua with lipopolysaccharides or group B streptococci. Biol Reprod 2004;71:1296-302.
13. Estrada-Gutiérrez G, Vadillo-Ortega F, Jiménez-González MA, Beltrán-Montoya J, Giono-Cerezo S. Caracterización bioquímica y ultraestructural del efecto de la interleucina 1-β como mediador de degradación de tejido conectivo en membranas corioamnióticas humanas en cultivo. Ginecol Obstet Mex 2002;70:190-5.
14. Arechavaleta-Velasco F, Ogando D, Parry S, Vadillo-Ortega F. Production of matrix metalloproteinase-9 in lipopolysaccharide-stimulated human amnion occurs through an autocrine and paracrine proinflammatory cytokine-dependent system. Biol Reprod 2002;67:1952-8.
15. Reisenberger K, Egarter C, Schiebel I, Obermair A, Kiss H, Lehner R. In vitro cytokine and prostaglandin production by amnion cells in the presence of bacteria. Am J Obstet Gynecol 1997;176:981-4.