

Evaluación de la fibronectina oncofetal y de la gelatinasa de 92 kDa (MMP-9) como marcadores bioquímicos del progreso de trabajo de parto

FELIPE VADILLO-ORTEGA,^a KARLA CÓRDOBA,^a
ALEYDA QUEZADA,^a JORGE BELTRÁN-MONTOYA,^b
SULEMA GUTIÉRREZ-CORCHADO,^a GERARDO MENOCAL-TOBÍAS^b

RESUMEN

Objetivo: Determinar la relación entre la expresión de fibronectina oncofetal (fnOnc) y metaloproteínasa-9 (MMP-9) en secreciones cervicovaginales de mujeres en diferentes etapas del trabajo de parto.

Métodos: Estudio clínico transversal, que incluyó mujeres sin trabajo de parto y gestantes con trabajo de parto estratificadas según la escala Bishop. A todas las mujeres se les tomó una muestra de exudado cervicovaginal en donde se determinó fnOnc por el método de ELISA y MMP-9 por zimografía.

Resultados: Se documentó que tanto las concentraciones de fnOnc, como de MMP-9 aumentaron en relación con el desarrollo del trabajo de parto, sin embargo, la expresión de la MMP-9 en el exudado cervicovaginal se presenta desde las primeras fases del desarrollo del trabajo de parto, en tanto que la fnOnc lo hace de manera tardía, una vez que el trabajo de parto ha progresado.

Conclusiones: Tanto la fnOnc, como la MMP-9 parecen ser marcadores biológicos del progreso del trabajo de parto y su aparición en el exudado cervicovaginal muy probablemente refleja los fenómenos degradativos del tejido conectivo de las membranas y placenta. La MMP-9 se hace positiva antes que la fnOnc.

PALABRAS GUÍA: Parto, metaloproteínasa, fibronectina-oncofetal.

INTRODUCCIÓN

El parto pretérmino es la complicación gestacional que explica la mayor parte de las muertes neonatales,¹ y como tal afecta al menos a 10% del total de los embarazos humanos. La necesidad de establecer medidas preventivas

para evitar el desarrollo del parto pretérmino ha conducido a la elaboración de múltiples y diversas escalas que permitan evaluar el riesgo para desarrollar esta complicación del embarazo. Desafortunadamente, ningún índice ha mostrado tener la utilidad deseada y la prevalencia del parto pretérmino no ha sido modificada en los últimos lustros.^{2,3} Como parte de estos esfuerzos se han propuesto diferentes marcadores bioquímicos o biofísicos, dirigidos a distinguir a las mujeres embarazadas con mayor probabilidad para desarrollar parto pretérmino. Dentro de estos marcadores ha destacado la propuesta de utilizar la determinación de fibronectina oncofetal

^a Dirección de Investigación del Instituto Nacional de Perinatología.

^b Departamento de Tococirugía y Urgencias del INPer.

Correspondencia:

Dr. Felipe Vadillo Ortega, Instituto Nacional de Perinatología. Montes Urales 800, Lomas de Virreyes, México, D.F., 11000, Tel. 52 02 93 81, fax: 55 20 00 34.

Correo electrónico: felipe.vadillo@uia.mx

Recibido: 3 de octubre de 2002

Aceptado: 28 de octubre de 2002

(fnOnc) en secreciones vaginales, como un indicador del riesgo para desarrollar esa complicación del embarazo y aunque su uso no se ha generalizado, ya se cuenta con varios informes en los que se demuestra su utilidad.^{4,5}

La fnOnc es una proteína de matriz extracelular que corresponde a una isoforma de la fibronectina sérica, pero que es expresada solamente por tejidos fetales y por algunos tipos de células neoplásicas.⁶ Esta proteína es utilizada para promover el anclaje de la placenta al lecho uterino y después de la semana 20, es indetectable en secreciones cervicovaginales en el embarazo normal. Estas peculiaridades permitieron proponer su cuantificación en secreciones cervicovaginales como un marcador de destrucción tisular, el cual se asocia a la ruptura prematura de membranas (RPM) y al trabajo de parto normal o de pretérmino. Sin embargo, no se cuenta con suficientes evidencias que sustenten su origen y mecanismo de liberación de los tejidos fetales y su relación con los eventos antes mencionados.

De manera reciente, nuestro grupo ha propuesto que la degradación de matriz extracelular en las membranas corioamnióticas es un fenómeno que acompaña o causa la RPM y parto pretérmino y se ha señalado la participación de un grupo de enzimas denominadas metaloproteasas de matriz extracelular en este proceso. En especial, fue posible demostrar que el evento de ruptura de las membranas, en condiciones normales o patológicas, se asociaba estrechamente con la expresión de un miembro específico de esta familia de enzimas, denominada gelatinasa de 92 kDa o MMP-9.^{7,8} Estos hallazgos, al margen de su carácter explicativo del mecanismo bioquímico de la ruptura de membranas, permiten proponer el uso de esta enzima como un marcador del evento de inicio de trabajo de parto o de la ruptura de membranas. Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo fue establecer si existe relación entre la expresión de fnOnc y MMP-9 en secreciones cervicovaginales en las diferentes etapas del trabajo de parto y así evaluar, de manera preliminar, su posible uso como marcadores bioquímicos del desarrollo de parto pretérmino.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Instituto Nacional de Perinatología y se contó con el consentimiento informado de las mujeres que acudieron al Departamento de Tococirugía y Urgencias para atención del trabajo de parto. Las embarazadas fueron incluidas en este estudio de manera consecutiva y aleatoria, una vez que se documentó la presencia de embarazo con producto único, sin evidencia clínica de infección y sin complicaciones. Antes de la exploración pélvica, se introdujo un espejo vaginal, lubricado con solución salina, y se realizó una toma de exudado vaginal del fondo del saco uterino, sin manipulación directa de cérvix, con un hisopo estéril, que fue sumergido después en una solución amortiguadora y mantenida en congelación a -70°C , hasta que se realizaron las determinaciones bioquímicas. Otra muestra de exudado fue enviada para análisis microbiológico general y todas las muestras positivas a gérmenes patógenos fueron descartadas. Se definieron cuatro grupos de estudio, que fueron clasificados de la siguiente manera: grupo 1, fase inicial del trabajo de parto con 0 a 2 cm de dilatación; grupo 2, fase intermedia del trabajo de parto con 3 a 4 cm de dilatación; grupo 3, fase final del trabajo de parto con 5 a 10 cm de dilatación. En estos tres grupos sólo se aceptaron embarazadas con contracciones regulares, con ritmo de al menos cuatro en una hora y con cambios cervicales (dilatación o borramiento). Sólo se incluyeron a aquellas pacientes que evolucionaron hacia trabajo de parto en las siguientes 24 horas. Se aceptaron exclusivamente pacientes con edades gestacionales entre 38 y 41 semanas. El grupo 4 se integró con pacientes reclutadas en la consulta externa del mismo Instituto, con edad gestacional entre 24 y 30 semanas, sin contracciones uterinas, ni complicaciones médicas del embarazo.

La definición del estadio de trabajo de parto se realizó de acuerdo con las normas institucionales que utiliza la escala de Bishop y se realizó siempre con dos especialistas en Ginecología y Obstetricia, estandarizados de manera previa.



Las determinaciones bioquímicas fueron realizadas en forma ciega y por duplicado. La fnOnc se determinó utilizando un ELISA tipo sándwich con límite de sensibilidad de 0.5 ng/mL. Los fabricantes del sistema (Adeza, California, USA) han definido una concentración < 50 ng/mL como el límite útil en la clínica, para aceptar una muestra como negativa. En las mismas muestras se cuantificó MMP-9, mediante un ensayo enzimático utilizando geles de poliacrilamida con sustrato y se cuantificó su cantidad mediante densitometría, utilizando estándares purificados de acuerdo con técnicas publicadas previamente.⁷ El ensayo es lineal en el intervalo de 10 a 500 ng/mL. Se consideró positivo cuando se detectó la enzima bajo las condiciones del ensayo (> de 10 ng/mL).

Para el análisis de la asociación entre los marcadores bioquímicos y el progreso de trabajo de parto, se calculó el coeficiente de correlación de intervalos de Spearman, por tratarse de variables no paramétricas.

RESULTADOS

Las características clínicas de las mujeres que participaron en el estudio se resumen en la Tabla 1. Como se puede observar se trata de un grupo de embarazadas jóvenes con baja paridad.

Para ambos marcadores bioquímicos existió correlación positiva y significativa con la presencia o ausencia de trabajo de parto. Tomando en consideración los puntos de corte mencionados, el porcentaje de casos positivos de fnOnc y MMP-9, en los grupos sin y con

trabajo de parto (según magnitud de la dilatación cervical), se muestran en la Figura 1. Llamó la atención que en el caso de la MMP-9, el porcentaje de casos con la prueba positiva fue superior al 50% desde la primera fase del trabajo de parto; mientras que para alcanzar al menos 50% de casos positivos de fnOnc, la mujer requirió contar con por lo menos 3 cm de dilatación. Por otro lado, la concentración de los dos marcadores también aumentó de manera progresiva y significativa en las muestras de exudado conforme avanzó el trabajo de parto (Tabla 1).

DISCUSIÓN

En este estudio fue posible documentar una relación directa y significativa entre la presencia de fnOnc y MMP-9 en exudados vaginales con la presencia de trabajo de parto, e inclusive una correlación positiva con el progreso del mismo, conforme a los estadios en que se dividió a las pacientes en este estudio. Sin embargo, la MMP-9 aparece con antelación a la de fnOnc en la mayor parte de los casos, lo que sugiere la posibilidad de que la activación de la degradación de matriz extracelular en las membranas fetales y otros tejidos vecinos, se acompañe de la liberación de la fnOnc y su aparición en el exudado vaginal, sea una consecuencia de la presencia y actividad de la MMP-9, que al actuar sobre los elementos de la matriz extracelular con los que la fnOnc establece uniones, libere de manera colateral a la propia fnOnc.

Existe la posibilidad de que otras enzimas como el activador de plasminógeno tipo

Tabla 1
Características generales de la población

	Sin trabajo de parto	Con trabajo de parto (cm de dilatación)		
		0-2	3-4	5-10
Número de casos	65	32	24	58
Edad (años)	22.7 ± 3.2	21.3 ± 3.2	20.8 ± 3.0	21.0 ± 3.4
Gestas	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1
Fibronectina (ng/mL)	38.2 ± 75	75.4 ± 52	345.0 ± 210	435 ± 100
MMP-9 (ng/mL)	12.5 ± 20	123.5 ± 98	385.3 ± 125	789 ± 210

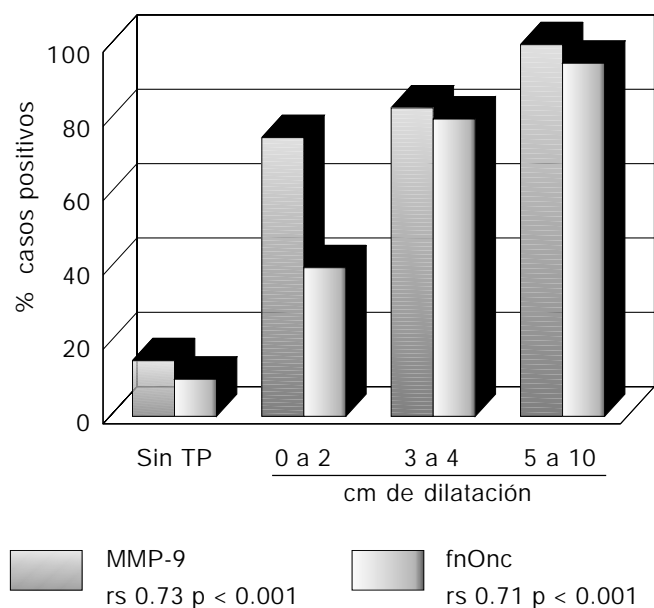


Figura 1
MMP-9 y fnOnc según progreso de trabajo de parto

uroquinasa, derivada del trofoblasto, degradan de manera directa a la propia fnOnc,⁹ con la consecuente liberación de fragmentos de la proteína. El sistema de detección que se utilizó en este estudio no distingue entre fnOnc entera o fragmentos grandes que contengan el epitopo de reconocimiento por el anticuerpo, pero en cualquier caso, la concentración de la fnOnc se incrementa en el exudado cervicovaginal, conforme avanza el trabajo de parto.

De los resultados obtenidos, es posible suponer que la identificación de la MMP-9 en el exudado vaginal, podría ser un indicador pronóstico del desarrollo temprano del parto, conclusión que debe ser probada en un ensayo clínico en donde se evalúe la capacidad pronóstica de ambos marcadores para identificar a las mujeres embarazadas en riesgo para desarrollar parto pretérmino y/o ruptura prematura de membranas.

Idealmente, lo más adecuado para documentar el incremento progresivo de los marcadores habría sido el seguimiento de cada paciente para cada uno de los puntos en que se tomó el exudado para hacer un seguimiento longitudinal, aunque esto implica el muestreo repetido en una mujer con trabajo de parto y esto no es posible justificarlo del todo. Una complicación potencial para la identificación de cualquiera de los dos compuestos, y que no fue evaluada en este estudio, es la presencia de falsos negativos por contaminación cruzada con sangre potencialmente contaminante en los estadios avanzados del parto. Bajo las condiciones utilizadas en este estudio, no se apreció un efecto mayor sobre la detección de los dos marcadores, aun en presencia de sangre contaminante.

Los resultados obtenidos apoyan la posibilidad de utilizar cualquiera de los dos marcadores usados para evaluar el desarrollo del trabajo de parto pretérmino, acompañado o no de RPM.



ABSTRACT

Objective: To determine the relationship among oncofetal fibronectin (Oncfn) expression and metalloproteinase-9 (MMP-9) in vaginal secretions of women on different labor stages.

Methods: It was a cross-sectional clinical study that included women with and without delivery, stratified according to the Bishop scale. A sample of vaginal secretions was taken and Oncfn was determined by ELISA and MMP-9 by zimography.

Results: It was documented that Oncfn and MMP-9 concentrations increased along delivery, however, the expression of the MMP-9 in vaginal secretions was present from the first phases of development of labor, as long as the fnOnc makes it in a late time, once the delivery has progressed.

Conclusions: The Oncfn and the MMP-9 seems to be biological markers of the progress of delivery and its appearance in vaginal secretions very probably reflect the degradation phenomenon on membranes and placenta's connective tissue. MMP-9 becomes positive before the Oncfn.

KEY WORDS: *Delivery, metalloproteinase, oncofetal-fibronectine.*

REFERENCIAS

1. Dirección General de Estadística e Informática. Mortalidad 1996, México, D.F., Secretaría de Salud 1997: 350.
2. Hefner L, Sherman C, Speizer FI, Weiss S. Clinical and environmental predictors of preterm labor. *Obstet Gynecol* 1993; 81: 750-7.
3. Creasy RK. Preventing preterm birth. *New Eng J Med* 1991; 325: 727-9.
4. Ahner R, Kiss H, Egarter El. Fetal fibronectin as a marker to predict the onset of term labor and delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 325: 134-7.
5. Lockwood C, Senyei A, Dischel R. Fetal fibronectin in cervical and vaginal secretions as a predictor of preterm delivery. *New Eng J Med* 1991; 325: 669-74.
6. Matura H, Takio K, Titani K. The oncofetal structure of human fibronectin defined by monoclonal antibody FDC-6. *J Biol Chem* 1988; 263: 3314-22.
7. Vadillo-Ortega F, González G, Furth E, Lei H, Muschel R, Stetler W, Strauss J. 92 kDa type-IV collagenase (Matrix Metalloproteinase-9) activity in human amnio-chorion increases with labor. *Am J Pathol* 1995; 146: 148-56.
8. Vadillo-Ortega F, I Hernández MA, González-Ávila G, Bermejo L, Iwata K, Strauss J. Increased matrix metalloproteinase activity and reduced tissue inhibitor of metalloproteinases-1 levels in amniotic fluid from pregnancies complicated by premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 1371-6.
9. Monzón-Bordonaba F, Wang C, Feinberg R. Fibronectinase activity in cultured human trophoblasts is mediated by urokinase-type plasminogen activator. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176: 58-65.