

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Medicina



**NIVELES DE CITOQUINAS Y PROTEÍNA C
REACTIVA EN SUERO MATERNO EN
GESTANTES CON AMENAZA DE PARTO
PRETÉRMINO:**

ESTUDIO PROSPECTIVO COMPARATIVO CON
CONTROLES DE LA MISMA EDAD
GESTACIONAL Y CON GESTANTES A TÉRMINO
CON PRÓDROMOS DE PARTO

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Alejandra María Herrera Muñoz

Granada, 2017

UNIVERSIDAD DE GRANADA



**NIVELES DE CITOQUINAS Y PROTEÍNA C
REACTIVA EN SUERO MATERNO EN
GESTANTES CON AMENAZA DE PARTO
PRETÉRMINO:**

**ESTUDIO PROSPECTIVO COMPARATIVO CON
CONTROLES DE LA MISMA EDAD
GESTACIONAL Y CON GESTANTES A TÉRMINO
CON PRÓDROMOS DE PARTO**

TESIS DOCTORAL:

AUTOR:

Alejandra María Herrera Muñoz

DIRECTORES:

Ana María Fernández Alonso

Francisco Javier Gómez Jiménez

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Alejandra María Herrera Muñoz
ISBN: 978-84-9163-696-0
URI: <http://hdl.handle.net/10481/48836>

Agradecimientos

A las dos personas imprescindibles sin las cuales no habría podido llevar a cabo esta tesis: la Dra. Ana María Fernández Alonso, por otorgarme la oportunidad de participar en mi primer proyecto de investigación de la especialidad habiendo conseguido despertar en mí el interés hacia este fascinante mundo que es la investigación médica, así como por su tesón y ayuda en la elaboración de esta tesis; y a la Dra. Natalia Fischer, colaboradora y amiga, por ser mi guía y apoyo, además de ejemplo de esfuerzo y trabajo, enseñándome que no existen metas inalcanzables cuando se hacen las cosas con ilusión.

Al Dr. Javier Gómez por su siempre buena disposición, interés y su inestimable ayuda a que esta tesis pueda ser finalmente presentada y leída en la Universidad de Granada.

A los Dres. Faustino Pérez y Peter Chedraui por su ayuda y consejo en la elaboración del artículo.

Al servicio de Obstetricia y Ginecología del Hospital Torrecárdenas, en especial a las matronas y matrones, así como a los residentes y exresidentes por su ayuda desinteresada en la recogida de datos.

Al servicio de Análisis Clínicos del Hospital Torrecárdenas, en especial a Consolación Romero y Firma Rodríguez, por su paciencia y arduo trabajo en el laboratorio, ofreciendo siempre una sonrisa y buena disposición.

Por último, a las personas que me han permitido alcanzar mis sueños en la vida y llegar a donde me encuentro hoy día: mis padres, por su apoyo incondicional y confianza plena; a mi hermana, por sus constantes palabras de ánimo y enseñarme que siempre caminaremos juntas; y finalmente, a mi pareja de viaje en la vida, por demostrarme cada día que ha sido la mejor elección que jamás podría haber hecho y querer seguir construyendo conmigo muchos más planes de futuro.

Para Pepe, Inma, María y Antonio

Índice

I.- INTRODUCCIÓN.....	1
I.1.- CONCEPTO E IMPORTANCIA DEL PARTO PREMATURO EN LA OBSTETRICIA DEL SIGLO XXI. JUSTIFICACIÓN DE LA NECESIDAD DE UN SISTEMA DE DETECCIÓN DEL PARTO PREMATURO.....	3
I.2.- DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN DEL PARTO PREMATURO.....	8
<i>I.2.1.- Definición de parto prematuro, a término y tardío.....</i>	<i>8</i>
<i>I.2.2.- Parto prematuro vs aborto tardío.....</i>	<i>9</i>
<i>I.2.3.- Datación de la gestación.....</i>	<i>10</i>
<i>I.2.4.- Tipos de prematuridad.....</i>	<i>12</i>
I.3.- LA AMENAZA DE PARTO PREMATURO.....	13
<i>I.3.1.- Definición de la amenaza de parto prematuro.....</i>	<i>13</i>
<i>I.3.2.- Verdadero trabajo de parto prematuro vs falso trabajo de parto prematuro.....</i>	<i>13</i>
<i>I.3.3.- Diagnóstico de la amenaza de parto prematuro.....</i>	<i>13</i>
I.3.3.1.- Pruebas diagnósticas empleadas en la actualidad.....	14
I.3.3.2.- Utilidad de la longitud cervical por ecografía transvaginal.....	16
I.3.3.3.- Otros métodos de apoyo al diagnóstico de APP: marcadores bioquímicos.....	18
I.3.3.4.- Marcadores predictivos en estudio.....	22
<i>I.3.4.- Valoración de la gestante con síntomas de APP.....</i>	<i>29</i>
I.4.- FACTORES DE RIESGO DE PARTO PREMATURO.....	30
<i>I.4.1.- Sistemas de calificación del riesgo de parto prematuro.....</i>	<i>41</i>
I.5.- MARCADORES DE RIESGO (PREDICTIVOS) DE PARTO PREMATURO EN GESTANTES ASINTOMÁTICAS.....	43
I.6.- FISIOPATOLOGÍA DEL PARTO PREMATURO	45
I.7.- CITOQUINAS.....	49

<i>I.7.1.- Citoquinas e inflamación</i>	49
I.7.1.1.- Definición y propiedades.....	50
I.7.1.2.- Medición.....	52
I.7.1.3.- Clasificación.....	54
I.7.1.4.- Principales tipos de respuestas mediatizadas por la acción de las citoquinas.....	56
I.7.1.5.- Receptores de citoquinas.....	57
I.7.1.6.- Mecanismos de regulación de citoquinas.....	59
I.7.1.7.- Funciones de las principales citoquinas.....	61
<i>I.7.2.- Citoquinas y parto prematuro</i>	74
I.7.2.1.- Citoquinas estudiadas en el parto pretérmino.....	75
II. HIPÓTESIS	87
III. OBJETIVOS	91
IV. MATERIAL Y MÉTODOS	95
IV.1. DISEÑO.....	97
IV.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	97
IV.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	99
IV.4. VARIABLES DE ESTUDIO.....	101
IV.5. RECLUTAMIENTO Y RECOGIDA DE DATOS.....	104
IV.6. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS.....	113
<i>IV.6.1. Análisis en laboratorio de urgencias</i>	113
<i>IV.6.2. Análisis microbiológico</i>	114
<i>IV.6.3. Análisis de citoquinas</i>	115
IV.7. Análisis estadístico.....	116
V. RESULTADOS	117
V.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO.....	119
<i>V.1.1. Características maternas, obstétricas y neonatales</i>	123

V.1.1.1. Parto pretérmino (< 37 semanas) vs parto a término (\geq 37 semanas).....	126
V.1.1.2. Casos (APP) con parto < 34 semanas vs controles.....	128
V.1.1.3. Casos (APP) con parto < 34 semanas vs PDP.....	129
V.1.2. Longitud cervical en el parto prematuro según la edad gestacional.....	130
V.1.3. Marcadores séricos.....	132
V.1.3.1. Parto pretérmino vs a término.....	134
V.1.3.2. Casos (APP) con parto < 34 semanas vs controles.....	135
V.1.3.3. Casos (APP) con parto < 34 semanas vs PDP.....	136
V.2. ANÁLISIS BIVARIANTE.....	136
V.2.1. Casos (APP) vs controles.....	136
V.2.2. Casos (APP).....	140
V.2.3. Casos vs PDP.....	144
V.3. ANÁLISIS MULTIVARIANTE.....	148
V.3.1. Casos (APP) vs controles.....	148
V.3.2. Sólo grupo de casos (APP).....	149
V.3.3. Casos vs PDP.....	151
VI. DISCUSIÓN.....	153
VI.1. CARACTERÍSTICAS MATERNAS Y PP.....	155
VI.2. LONGITUD CERVICAL Y PARTO PREMATURO.....	160
VI.3. CITOQUINAS Y PARTO PREMATURO.....	161
VI.4. PREDICCIÓN DEL RIESGO DE PARTO PRETÉRMINO.....	166
VII. LIMITACIONES.....	173
VIII. CONCLUSIONES.....	177
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	181

X. ANEXOS.....	233
X.1. ANEXO 1.....	235
X.2. ANEXO 2.....	236
X.3. ANEXO 3.....	238

Índice de figuras

FIGURA 1. <i>Nacimientos prematuros por edad gestacional y región en 2010.....</i>	4
FIGURA 2. <i>Los 10 países con mayor número de nacimientos prematuros y los 10 países con las tasas más elevadas de nacimientos prematuros por cada 100 nacidos vivos.....</i>	4
FIGURA 3. <i>Registro cardiotocográfico con frecuencia cardíaca fetal con línea de base normal y presencia de dinámica uterina.....</i>	14
FIGURA 4. <i>Cérvix normal y cérvix curvo.....</i>	16
FIGURA 5. <i>Cérvix acortado con embudización.....</i>	17
FIGURA 6. <i>Imagen de elastografía con una región rectangular de interés.....</i>	23
FIGURA 7. <i>Riesgo de PP a diversas edades gestacionales y con diversas combinaciones de factores de riesgo en mujeres nulíparas y multíparas.....</i>	42
FIGURA 8. <i>Efectos de las citoquinas.....</i>	51
FIGURA 9. <i>Características de la actuación de las citoquinas.....</i>	52
FIGURA 10. <i>Tipos de afinidad entre IL-2 y sus receptores.....</i>	58
FIGURA 11. <i>Regulación negativa entre TH1 Y TH2.....</i>	60
FIGURA 12. <i>Población de estudio.....</i>	119
FIGURA 13. <i>Diagrama de flujo de la evolución y finalización de los casos de APP.....</i>	120
FIGURA 14. <i>Diagrama de caja en el que se muestra la distribución de la edad materna expresada en años en los tres grupos de estudio.....</i>	124
FIGURA 15. <i>Diagrama en caja en el que se muestra la distribución del peso materno expresado en kg al reclutamiento de los tres grupos de estudio.....</i>	124
FIGURA 16. <i>Diagrama de caja en el que se muestra la distribución del IMC expresado en kg/m² entre los tres grupos de estudio.....</i>	125
FIGURA 17. <i>Diagrama de cajas en el que se muestra la distribución de la longitud cervical en los tres grupos de estudio.....</i>	125

FIGURA 18. <i>Diagrama de caja en el que se muestra la distribución del peso materno expresado en kg en los casos (APP) estratificados según parto pretérmino vs a término.....</i>	<i>127</i>
FIGURA 19. <i>Diagrama de caja en el que se muestra la distribución de la longitud cervical expresada en mm en el momento de la inclusión en el estudio en los casos (APP) estratificados según parto pretérmino vs a término.....</i>	<i>127</i>
FIGURA 20. <i>Diagrama de caja en el que se muestra la distribución de la tensión arterial diastólica expresada en mmHg en el momento de la inclusión en el estudio en los casos (APP) estratificados según parto pretérmino vs a término.....</i>	<i>128</i>
FIGURA 21. <i>Diagrama de caja en el que se muestra la distribución de la longitud cervical expresada en mm entre los casos (APP) con parto < 34 semanas y los controles.....</i>	<i>129</i>
FIGURA 22. <i>Diagrama de caja en el que se muestra la distribución de la longitud cervical en las gestantes de < 32 semanas y < 32 semanas según tuvieron PP o a término.....</i>	<i>131</i>

Índice de tablas

TABLA 1. <i>Complicaciones y discapacidades relacionadas con la prematuridad.....</i>	5
TABLA 2. <i>Gastos adicionales de los nacimientos prematuros comparados con los nacimientos a término.....</i>	7
TABLA 3. <i>Índice de Bishop: sirve para pronosticar, según las condiciones del cérvix uterino a través del tacto vaginal, el parto vaginal.....</i>	15
TABLA 4. <i>Capacidad predictiva de los marcadores bioquímicos de APP.....</i>	19
TABLA 5. <i>Sistema de puntuación de factores de riesgo.....</i>	42
TABLA 6. <i>Cribado de la longitud cervical avalado por la mayoría de los estudios.....</i>	44
TABLA 7. <i>Ensayos de citoquinas.....</i>	54
TABLA 8. <i>Tipos de citoquinas y su nomenclatura.....</i>	56
TABLA 9. <i>Resumen de las principales citoquinas conocidas y sus funciones.....</i>	71
TABLA 10. <i>Test de Apgar.....</i>	104
TABLA 11. <i>Características demográficas, antenatales y obstétricas de las gestantes con APP (casos), gestantes de la misma edad gestacional sin APP (controles) y gestantes a término con PDP.....</i>	121
TABLA 12. <i>Resultados obstétricos y neonatales en los tres grupos de estudio.....</i>	122
TABLA 13. <i>Comparación de la longitud cervical según edad gestacional < 32 ó > 32 semanas en los casos, casos con PP y casos con PP de inicio espontáneo.....</i>	130
TABLA 14. <i>Comparación de la longitud cervical según PP o a término en los casos de < 32 semanas y > 32 semanas.....</i>	131
TABLA 15. <i>Comparación de la longitud cervical según PP de inicio espontáneo o no en los casos de < 32 semanas y > 32 semanas.....</i>	131
TABLA 16. <i>Comparación de la longitud cervical según PP durante la primera semana tras el diagnóstico o tras la primera semana.....</i>	132

TABLA 17. <i>Parámetros estudiados (en el momento de la inclusión en el estudio) en el suero materno de las gestantes con APP (casos), gestantes de la misma edad gestacional sin APP (controles) y gestantes a término con PDP.....</i>	133
TABLA 18. <i>Parámetros séricos maternos con significación estadística tras estratificar los casos y los controles según parto < 37 semanas y > 37 semanas.....</i>	135
TABLA 19. <i>Correlación entre todos los parámetros séricos medidos en suero materno entre las gestantes con APP (casos) y controles</i>	138
TABLA 20. <i>Correlación entre todos los parámetros séricos medidos en suero materno en las gestantes con APP (casos).....</i>	142
TABLA 21. <i>Correlación entre todos los parámetros séricos medidos en suero materno en las gestantes con APP (casos) y PDP.....</i>	146
TABLA 22. <i>Regresión logística de casos y controles considerando APP como variable dependiente. Se muestra sólo la variable con una $p < 0.05$.....</i>	148
TABLA 23. <i>Análisis de la eficacia diagnóstica de cada uno de los marcadores con significación estadística empleados para la predicción del PP según la edad gestacional al parto en la población de casos y controles.....</i>	149
TABLA 24. <i>Regresión logística de casos considerando PP como variable dependiente. Se muestran sólo las variables con una $p < 0.05$.....</i>	150
TABLA 25. <i>Análisis de la eficacia diagnóstica de cada uno de los marcadores con significación estadística empleados para la predicción del PP según la edad gestacional al parto en la población de casos (APP).....</i>	150
TABLA 26. <i>Análisis de la eficacia diagnóstica de cada uno de los marcadores con significación estadística empleados para la predicción del PP según la edad gestacional al parto en la población de casos y PDP.....</i>	151

Abreviaturas

ACTH: *Corticotropina*

APP: *Amenaza de parto prematuro*

BDNF: *Factor neurotrófico derivado del cerebro*

CA: *Circunferencia abdominal*

Células NK: *células "Natural Killer"*

CNTF: *Factor neurotrófico ciliar*

CRH: *Hormona liberadora de corticotropina*

CSF-2: *Factor estimulador de colonias tipo 2*

DBP: *Diámetro biparietal*

EGF: *Factor de crecimiento epidérmico*

EPO: *Eritropoyetina*

fFN: *Fibronectina fetal*

FGF: *Factor de crecimiento de fibroblastos*

G-CSF: *Factor estimulador de colonias de granulocitos*

GM-CSF: *Factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos*

HGF: *Factor de crecimiento hepatocitario*

HHS: *Hipotálamo-hipofisario-suprarrenal*

HLA: *Antígeno leucocitario humano*

IBP4: *Proteína 4 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina*

IFN: *Interferón*

Ig: *Inmunoglobulinas*

IGF: *Factor de crecimiento insulínico*

IL: *Interleuquina*

IMC: *Índice de masa corporal*

LB: *Linfocitos B*

LCC: *Longitud cráneo-caudal*

LF: *Longitud femoral*

LIF: *Factor inhibidor de leucemia*

LT: *Linfocitos T*

MCP: *Citoquina quimioatrayente de monocitos*

M-CSF: *Factor estimulador de colonias de macrófagos*

MIP-1beta: *Proteína 1beta inflamatoria de macrófago*

MM-CSF: *Factor estimulador de colonias de monocitos y macrófagos*

MMP: *Metaloproteinasa*

NGF: *Factor de crecimiento nervioso*

OSM: *Oncostatina M*

PAMG-1: *Alfa microglobulina-1 placentaria*

PAPP-A: *Proteína A del plasma asociada al embarazo*

PC: *Perímetro cefálico*

PCR: *Proteína C reactiva*

PDGF: *Factor de crecimiento derivado de las plaquetas*

PDP: *Pródromos de parto*

phIGFBP-1: *Proteína 1 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina fosforilada*

PP: *Parto prematuro*

RANTES: *Proteína regulada tras la activación de LT normales expresados y secretados*

RPM: *Rotura prematura de membranas*

SCF: *Factor de células madre*

SEGO: *Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia*

SGB: *Estreptococo del grupo B*

SHBG: *Globulina fijadora de hormonas sexuales*

TC: *Linfocitos T “citotóxicos”*

TFG: *Factor de crecimiento transformante*

TH: *Linfocitos T “helper” o colaboradores*

TNF: *Factor de necrosis tumoral*

VEGF: *Factor de crecimiento endotelial vascular*

I Introducción

1.1.- Concepto e importancia del parto prematuro en la obstetricia del siglo

XXI. Justificación de la necesidad de un sistema de detección del verdadero parto prematuro.

Los nacimientos prematuros representan el 11.1% de los nacimientos vivos del mundo (1 de cada 10 embarazos), con un número estimado de 15 millones de nacimientos pretérmino cada año, de los cuales más de un millón muere como consecuencia de su prematuridad. La prematuridad es responsable de hasta un 75% de la mortalidad perinatal y es la segunda causa de muerte en niños menores de 5 años, después de la neumonía; así como la causa única más importante de muerte en el primer mes de vida.

El 60% de los partos prematuros o pretérmino (PP) se producen en Asia meridional y África subsahariana (figura 1). Los Estados Unidos, Brasil, India y Nigeria se ubican entre los 15 países con mayor número de nacimientos prematuros, siendo Malawi el que mayor tasa presenta con un 18.1%^{1,2}. En España la tasa de prematuridad correspondiente al año 2010 era de un 7.4%, lo que supone un aumento de un 36% desde el año 1996. La incidencia global oscila entre un 4-18%³ (figura 2).

La prematuridad es una prioridad importante de salud pública y la prevalencia del PP sigue aumentando a pesar de los avances en los cuidados obstétricos y neonatales. Desde 1990 la tasa de nacimientos prematuros ha aumentado un 14% a nivel mundial² y la explicación la encontramos, en gran medida, en un aumento de la edad materna, una reanimación más agresiva de los recién nacidos muy prematuros, el mayor uso de la reproducción asistida que no sólo conlleva a un aumento en el número de gestaciones múltiples sino que también supone un incremento en el riesgo de PP en el caso de los embarazos simples⁴.

Figura 1. Nacimientos prematuros por edad gestacional y región en 2010¹.

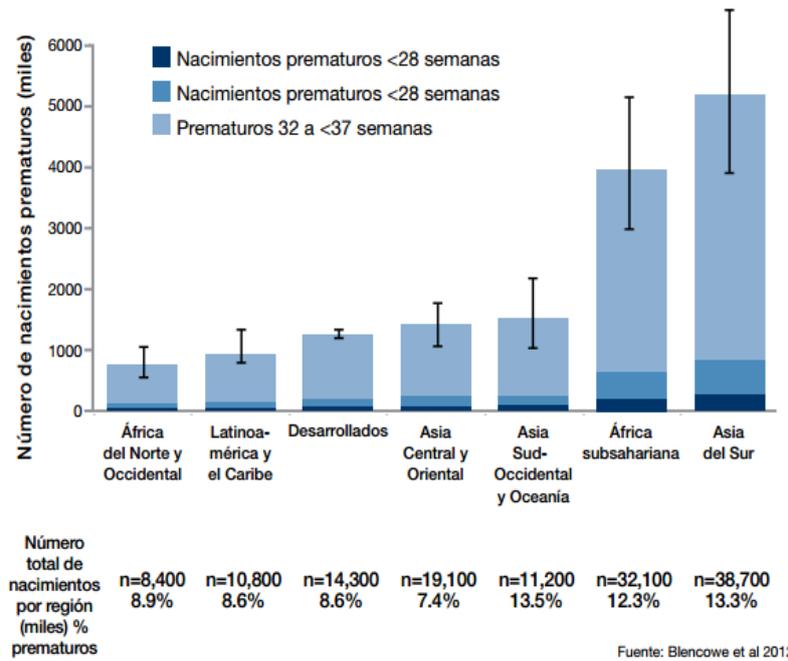
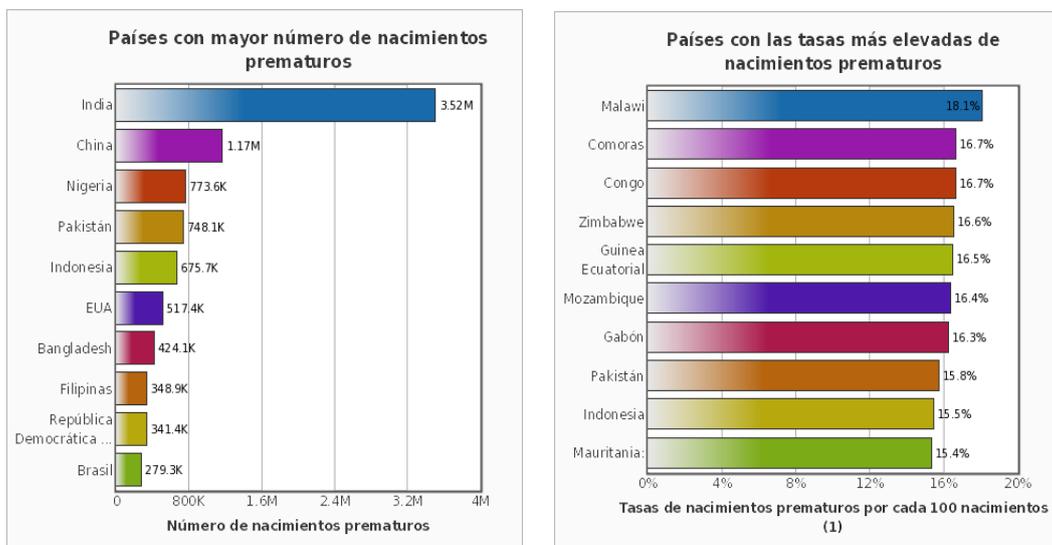


Figura 2. Los 10 países con mayor número de nacimientos prematuros¹ y los 10 países con las tasas más elevadas de nacimientos prematuros por cada 100 nacidos vivos³.



Los recién nacidos pretérmino presentan problemas de salud y desarrollo superiores a los nacidos a término. Las principales consecuencias del PP son ceguera o sordera, enfermedad pulmonar crónica, desórdenes neurológicos, parálisis cerebral y muerte⁵(tabla 1).

Tabla 1. Complicaciones y discapacidades relacionadas con la prematuridad⁶.

Patología	Complicación al nacimiento	Secuelas y discapacidades
Respiratoria	Síndrome de distrés respiratorio (déficit de surfactante)	Pneumotórax, enfisema, hipertensión pulmonar crónica
Neurológica	Inmadurez del sistema nervioso central, hemorragia intraventricular, infarto hemorrágico	Retraso mental, déficit sensorial y/o motor, dificultad de prendizaje, problema de conducta
Oftalmológica	Retinopatía del prematuro	Déficit visual
Cardiovascular	Hipotensión arterial, ductus arterioso persistente	Retraso del crecimiento, neumonía, cansancio físico
Gastrointestinal	Enterocolitis necrotizante	Déficit nutritivo, retraso del crecimiento, muerte
Inmunológica	Inmadurez del sistema inmune	Sepsis, meningitis, muerte
Metabolismo	Hipotermia, acidosis metabólica tardía, alteraciones del metabolismo hidrosalino, hidrocabonado, calcio y fósforo	Broncodisplasia, osteoporosis, diabetes, alteración del crecimiento, necesidad de cuidados médicos especiales
Hematológica	Alteraciones de las diferentes series celulares sanguíneas	Anemia tardía, leucopenia, trombocitosis
Endocrina	Inmadurez de glándulas endocrinas	Hipotiroidismo, alteraciones del desarrollo gonadal, etc.

Un estudio publicado en el 2008 y realizado en Noruega reveló que el nacimiento prematuro se asocia, en el caso de las mujeres, a un mayor riesgo de tener hijos prematuros; en el caso de los varones, a un mayor riesgo de mortalidad en la infancia; y en ambos sexos, a una capacidad reproductora reducida⁷. Otro estudio realizado en este país analizó el efecto de haber nacido prematuro sobre la discapacidad y el éxito vocacional en adultos jóvenes. El PP se asoció con un aumento escalonado del riesgo de discapacidad, pero también con un ingreso neto más bajo y una menor probabilidad de completar una educación universitaria que en aquellos sin ninguna indicación de discapacidad (recién nacidos a término)⁸.

Los resultados perinatales han mejorado mucho en las últimas décadas en los países desarrollados con una tasa de mortalidad neonatal que iba de 10-20/1000 neonatos en 1970 hasta 2-3/1000 en 2010. Este cambio se ha debido a una mejora importante en los cuidados peri y neonatales; sin embargo a pesar de estas tendencias positivas en general, la carga de la mortalidad sigue siendo elevada, con una cifra estimada de 40.000 a 45.000 muertes neonatales y de recién nacido por año en los países de la Unión Europea⁹.

El nacimiento pretérmino implica un importante gasto en recursos sanitarios (tabla 2). Su reducción supondría un ahorro muy importante en países como los EEUU, donde se estima que la mitad de los costes de hospitalización neonatal y un cuarto de los costes pediátricos se deben a los nacimientos prematuros¹⁰; así como en Reino Unido e Irlanda donde se estimó que los gastos por ingresos hospitalarios en los diez primeros años de vida eran hasta dos veces mayores en el caso de recién nacidos prematuros en comparación con niños a término¹¹.

Actualmente no se ha logrado un consenso en cuanto a la etiología del PP y, además, los medios diagnósticos disponibles no pueden predecir certeramente en qué gestantes se desarrollará un PP. Los mecanismos implicados en el PP no son los mismos que en el parto a término. Su etiología es compleja y multifactorial, interviniendo factores inflamatorios, isquémicos,

inmunológicos, mecánicos y hormonales¹². La causa principal del PP es desconocida hasta en un 50% de los casos. El parto prematuro puede ocurrir por¹³: indicaciones maternas o fetales (20%), rotura prematura de membranas (RPM) idiopática (30%) y cuatro causas que agrupan el 50% restante (infección intraamniótica, trombofilias o hemorragias placentarias, estrés psicológico o físico y sobredistensión uterina).

Tabla 2. Gastos adicionales de los nacimientos prematuros comparados con los nacimientos a término¹⁴.

Gastos adicionales

1. Costes del parto
 2. Costes de la intervención temprana
 3. Costes de educación especial
 4. Rehabilitación de discapacidades físicas
 5. Cuidados continuos
 6. Apoyo a la familia
 7. Costes de la pérdida de la productividad familiar asociada a parálisis cerebral, el retraso mental y la discapacidad auditiva
-

Una vez iniciado el proceso activo de parto, la ecografía de la longitud cervical (sensibilidad entre el 60-80%)¹⁵ es uno de los procedimientos más objetivos para su diagnóstico¹⁶. El test de la fibronectina en fluidos cervicovaginales puede incrementar el valor predictivo negativo de la ecografía¹⁷.

La amenaza de parto prematuro (APP) es una patología frecuente, causante de mortalidad y morbilidad fetal con secuelas para la vida posterior, con un importante impacto sanitario, económico y emocional; además de una incidencia creciente. A pesar de ello no disponemos de métodos de diagnósticos certeros (longitud cervical \pm test de fibronectina \approx 80%) ni de un tratamiento efectivo ya que los tratamientos hasta ahora disponibles (atosibán, ritodrine y

nifedipino) sólo permiten evitar el PP en un 70-80% de los casos cuando se trata de prematuros de más de 28 semanas. Es más, esta no es la efectividad real de estos fármacos pues se ha visto que muchas de las gestantes diagnosticadas de APP (entre un 50-60%) realmente no llegan a tener un verdadero PP¹⁸. Es por esto que se está produciendo un sobretratamiento, con todos los efectos secundarios que conlleva el mismo, debido a que no existe un método que nos permita diagnosticar de forma eficaz el PP. Por ello, la búsqueda de un modelo multivariante que nos permita predecir el PP, conocer más acerca de su etiopatogenia y posibles tratamientos nos parece pertinente, ya que tendrá un gran impacto clínico y asistencial.

En esta introducción se realizará una revisión actualizada de aquellos aspectos de interés para poder sentar las bases de desarrollo del PP, desde las claves fisiopatológicas (concretamente desde el punto de vista de los mecanismos inflamatorios e inmunológicos) hasta su consecución y finalización en el PP.

1.2.- Definición y clasificación del parto prematuro

1.2.1.- Definición de parto prematuro, a término y tardío

El PP es aquel que acontece antes de las 37 semanas de gestación¹⁹. El embarazo humano completo dura 40 semanas, es decir, 280 días. La idea clásica de los 9 meses de embarazo en los seres humanos proviene de un cambio en la datación de la gestación, según consideremos el embarazo desde la última regla o desde la última ovulación (14 días después de comenzar la menstruación). El tiempo real que el feto pasa en el útero desde la concepción hasta el parto es de 266 días, lo cual equivale a los 9 meses atribuidos al embarazo (38 semanas). Sin embargo, la mayor parte de las mujeres no son capaces de calcular con precisión el día de su ovulación y sí el de su última regla, de ahí que la datación se fundamente en este parámetro y hablemos de que la gestación natural del ser humano dure prácticamente unos 10 meses²⁰.

El parto a término es aquel que tiene lugar entre las 37⁰ y las 41⁶ semanas (entre los 259 y los 293 días) y hablamos de parto posttérmino cuando el embarazo llega a las 42 semanas (≥ 294 días)²¹. Se habla de parto a “término temprano” cuando nace entre las 37^{0/7} y las 38^{6/7}, a “término” entre las 39^{0/7} y las 40^{6/7} y “término tardío” entre las 41^{0/6} y las 41^{6/7} ^{21,22}. Aproximadamente el 70-75% de los partos se producen a término mientras que las tasas de parto posttérmino oscilan entre el 0,5% y el 8% a nivel mundial²³.

I.2.2.- Parto prematuro vs aborto tardío

La Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO) considera aborto tardío a todos aquellos fetos que de 12 o más semanas de gestación presenten un peso al nacimiento inferior a 500 g, lo cual correspondería a unas 22 semanas de gestación aproximadamente. Sin embargo, esta definición no implica que fetos de menor peso no puedan ser reanimados y sobrevivir²⁴.

En los últimos 10 años se ha llegado a un amplio consenso a nivel mundial de no iniciar la reanimación neonatal en²⁵⁻²⁷:

- Prematuros con edad gestacional ≤ 23 semanas y/o peso ≤ 400 g (excepto si vitalidad extrema o crecimiento uterino retardado)
- Anencefalia
- Trisomía 13 ó 18 confirmadas
- Fetos con signos de muerte (ausencia de respiración y latido, maceración)

Si se ha iniciado la reanimación, ésta se interrumpirá si:

- Se confirma la existencia de una enfermedad incurable (ej. anencefalia)
- No hay respuesta tras 10 minutos de reanimación cardiopulmonar

I.2.3.- Datación de la gestación

El error en la datación de la gestación ha sido identificado a lo largo de la literatura como un factor confusor. La medición directa de la longitud cráneo-caudal (LCC) vía transvaginal proporciona la estimación más precisa de la edad gestacional una vez que el polo embrionario puede ser identificado y se debe utilizar para determinar la fecha probable de parto²⁸. Sin embargo, si la gestación es aún muy precoz y no es visible el polo embrionario la medición del saco gestacional nos puede resultar útil para aproximar la datación de la gestación en días según la siguiente fórmula: diámetro del saco gestacional en mm + 30 = días de gestación. Esta fórmula sólo debe ser utilizada si no es posible obtener una medida de la LCC o si el saco gestacional es ≤ 14 mm²⁹. La medida del diámetro mayor del saco gestacional se debe realizar sin incluir la región hiperecogénica que lo rodea (trofoblasto)³⁰. Una vez que el embrión es visible (a partir de la 5^a-6^a semanas de gestación) la medición de la LCC se considera el método de referencia para datar la gestación^{29,31}. La medición de la LCC entre las 7 y las 10 semanas se considera el parámetro biométrico más exacto para datar el embarazo con un margen de error de ± 3 días³², mientras que éste aumenta entre las semanas 10 y 14 de embarazo a $\pm 5-7$ días^{33,34}. Es por ello que es necesario una LCC de al menos 10 mm (7 semanas) para realizar una adecuada datación de la gestación³⁵. Esta variación se ha atribuido a diferencias biológicas normales en el desarrollo embriológico y variaciones en el posicionamiento anatómico de la cabeza y el dorso fetal³⁶. Cuando la LCC es menor de 25 mm es posible calcular los días de embarazo mediante la siguiente fórmula: LCC en mm + 42³⁰. Cuando la LCC es mayor de 84 mm la gestación debe datarse por el diámetro biparietal (DBP)^{35,37,38}. El DBP es el parámetro biométrico mejor estudiado porque es altamente reproducible y puede predecir la edad gestacional dentro de ± 7 días cuando se mide entre las 14 y 20 semanas^{33,35,39,40}. El perímetro cefálico (PC) puede ser más fiable que el DBP en aquellos casos en los que se presentan variaciones de la forma del cráneo, tal y como en la dolicocefalia o braquicefalia. Algunos estudios han mostrado superioridad del PC en la datación

de la gestación con respecto al DBP⁴¹ y es el parámetro a emplear cuando el DBP es mayor a 60 mm y la fecha de última regla es desconocida⁴². El error humano y/o la variación normal en el tamaño fetal pueden sobre o subestimar la edad gestacional. La evaluación biométrica ideal para datar una gestación incorpora el menor número de medidas con el mayor potencial de exactitud, por lo que tras comparar varios parámetros biométricos el mejor rendimiento con la menor variabilidad ha sido obtenido con las cuatro medidas biométricas estándar: DBP, PC, circunferencia abdominal (CA) y longitud femoral (LF). Es por este motivo que la estimación de la edad gestacional después del primer trimestre se debe realizar con una combinación de medidas biométricas que incluyan el DBP, PC, CA y LF.

Si la fecha probable de parto calculada por ecografía difiere de la calculada a partir de la fecha de última regla o menstruación debe modificarse si la diferencia entre éstas es mayor de 7 días antes de las 16 semanas de gestación, si es mayor de 10 días entre las 16 y las 22 semanas, si es mayor de 14 días entre la 22 y la 28 semanas y si es mayor de 21 días después de la 28 semana, esto siempre que el embarazo no haya sido datado previamente³³.

En resumen la evidencia científica muestra que:

- En gestaciones muy precoces, cuando no es posible establecer la LCC: diámetro del saco gestacional (hasta los 14 mm).
- Datación exacta de la gestación: mediante la medición de la LCC hasta que ésta alcanza los 84 mm (aproximadamente entre las 5 y las 14 semanas).
- Cuando la LCC > 84 mm: medición de DBP, PC, CA y LF.

I.2.4.- Tipos de prematuridad

En función de la edad gestacional (semanas)²:

- Tardío: 34^{0/7}-36^{6/7}
- Moderado: 32^{0/7}-33^{6/7}
- Muy prematuro: 28^{0/7}-31^{6/7}
- Prematuro extremo: <28

En función del peso al nacimiento (gramos)⁴³:

- Bajo peso: < 2500
- Muy bajo peso: < 1500
- Bajo peso extremo: < 1000

En función de la causa:

Puede ser espontáneo o iatrogénico. El PP espontáneo representa el 80% de los casos y a su vez puede suceder por una APP (50%) o bien por RPM (20%) y el PP iatrogénico o indicado supone el 20% de los casos y puede ser por indicaciones maternas o fetales. La Alianza Global para la Prevención del Parto Prematuro y la Muerte Fetal diseñó en el año 2012 un nuevo sistema de clasificación que pretende sustituir al anterior basado solamente en un ítem. Esta nueva clasificación define el PP como un síndrome producido por muchas causas y fenotipos; se describen hasta 5 fenotipos⁴⁴:

- 1.- Condiciones maternas presentes antes del parto
- 2.- Condiciones fetales presentes antes del parto
- 3.- Condiciones relacionadas con la placenta y su patología
- 4.- Signos de inicio del parto
- 5.- Vía del parto

1.3.- La amenaza de parto prematuro

1.3.1.- Definición de la amenaza de parto de prematuro

La APP es el proceso clínico sintomático que sin tratamiento, o cuando éste fracasa, puede conducir a un PP.

La sintomatología de la APP suele ser inespecífica y abarca desde molestias abdominales de tipo menstrual, sensación de presión o peso en hipogastrio, dolor lumbar continuo o intermitente, hemorragia vaginal escasa hasta contracciones uterinas.

1.3.2.- Verdadero trabajo de parto prematuro vs falso trabajo de parto prematuro

La verdadera APP es aquella que cumple dos criterios claramente definidos: 1) dinámica uterina regular^{19,45} y 2) modificación cervical⁴⁶. En ocasiones, algunas pacientes presentan dinámica uterina sintomática pero con escasas modificaciones cervicales, éstas son denominadas falsas APP y no deberían ser tratadas con tratamiento tocolítico, pues además del coste innecesario (pues realmente no tendrán un PP) supone una serie de perjuicios derivados de la medicación¹⁸.

La verdadera APP es por ende aquella que finalmente termina en un PP pues se ha comprobado que aunque el uso de tocolíticos se asocia con una prolongación del embarazo hasta 48 horas, no tiene un claro efecto en la reducción de las tasas de prematuridad ni en la morbilidad neonatal^{47,48}. Es por ello que hoy día la indicación de tocolisis se indica con el objetivo de conseguir completar el ciclo de corticoides para la maduración pulmonar fetal y/o traslado de la paciente a un centro de referencia⁴⁹.

1.3.3.- Diagnóstico de la amenaza de parto prematuro

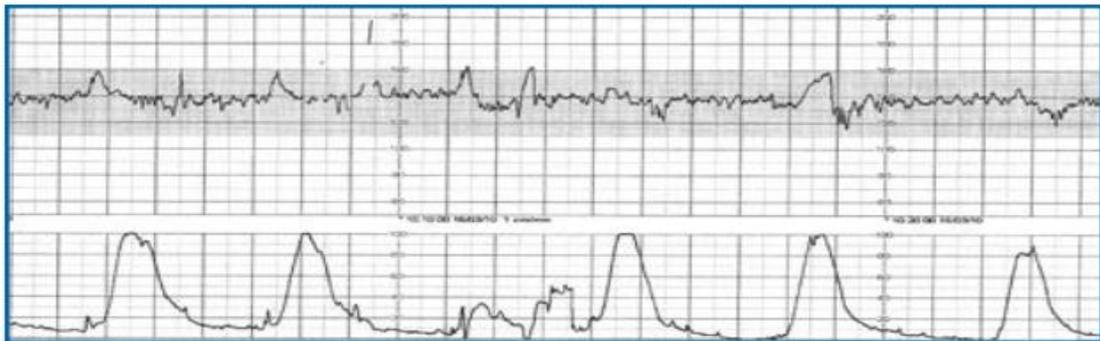
El diagnóstico de la APP se basa, como se ha explicado anteriormente, en la presencia de contracciones uterinas y modificaciones cervicales.

1.3.3.1.- Pruebas diagnósticas empleadas en la actualidad

- Contracciones uterinas:

La valoración de la dinámica uterina debe hacerse mediante registro cardiotocográfico externo. Para quedar incluido como diagnóstico de APP se considera necesario la presencia de 4 contracciones cada 20 minutos o bien de 8 contracciones cada 60 minutos^{19,45} (figura 3). Habitualmente la dinámica uterina es percibida por la gestante, como dolorosa o no, aunque la ausencia de sintomatología referida como contracciones no descarta el diagnóstico pues se puede expresar a modo de dolor lumbar bajo, presión en hipogastrio, dolor menstrual e incluso con sangrado vaginal.

Figura 3. Registro cardiotocográfico con frecuencia cardiaca fetal con línea de base normal y presencia de dinámica uterina⁵⁰.



- Modificaciones cervicales:

La modificación cervical es la base para el diagnóstico de la APP y sobre ella se va a sustentar la indicación o no de tratamiento médico. Su valoración puede realizarse mediante:

- Tacto vaginal: se debe valorar la consistencia, posición, borramiento, dilatación y altura de la presentación fetal (Test de Bishop) (tabla 3). Se habla de modificación cervical cuando existe un borramiento $\geq 80\%$ y/o una dilatación ≥ 2 cm (test de Bishop ≥ 4). La

gran variabilidad interobservador que presenta el examen digital, así como el escaso valor predictivo, conllevan a un sobrediagnóstico de APP⁵¹. Por ello, no es considerado el método más indicado para la valoración del cérvix uterino en una APP, excepto cuando existe una dilatación cervical ≥ 2 cm donde la medición por ecografía del cérvix tiene una capacidad pronóstica más limitada.

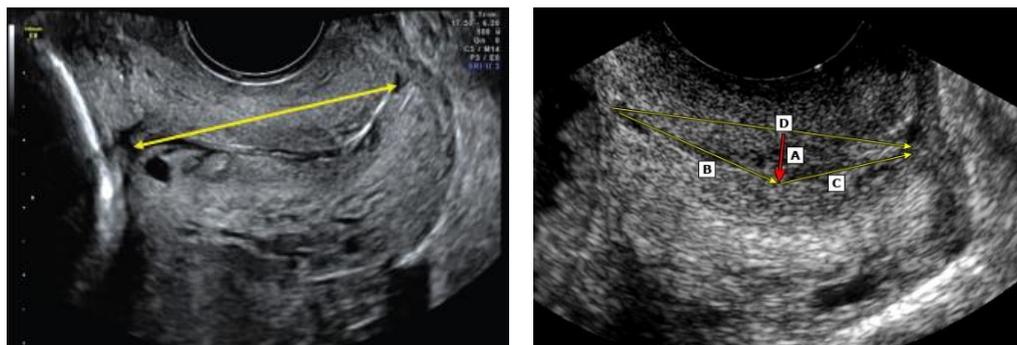
Tabla 3. Índice de Bishop: sirve para pronosticar, según las condiciones del cérvix uterino a través del tacto vaginal, el parto vaginal⁵².

	0	1	2	3
Dilatación (cm)	0	1-2	3-4	>5
Borramiento (%)	0-30	40-50	60-70	80-100
Consistencia	Firme	Intermedia	Blanda	
Posición	Posterior	Central	Anterior	
Situación del feto	-3	-2	-1,0	1,2

- Ecografía transvaginal (cervicometría): es considerado el método de referencia para la medición de la longitud cervical^{19,45,51}(figura 4). Para garantizar un buen valor predictivo su medición se debe realizar de forma adecuada. Con la vejiga vacía se introduce la sonda vaginal en la vagina sin hacer presión sobre el cérvix ya que podría aumentar la longitud artificialmente. Se obtiene un corte sagital del cérvix y se utiliza la mucosa cervical como guía para identificar el orificio cervical interno. Se utilizan los calipers para medir la distancia lineal entre el orificio cervical externo y la zona en forma de V del orificio cervical interno, sin incluir el embudo cervical que en ocasiones puede estar presente (fenómeno conocido como embudización o “funneling” en inglés). Se debe aumentar la imagen para que ocupe al menos el 75% de la pantalla. Siempre se han de obtener al menos 3 medidas y registrar la menor de ellas¹⁹. En los casos en los que el canal cervical no se presente recto sino curvo su medición se realizará de dos modos:

mediante la suma de las dos líneas rectas trazadas desde el orificio cervical interno y orificio cervical externo respectivamente y que se unen formando un ángulo en la curvatura del cuello (B y C) y mediante una línea recta que una orificio cervical interno y orificio cervical externo (D). En el caso de que la distancia (A) entre el ángulo y la línea recta sea mayor de 5 mm se empleará la suma de ambas líneas rectas.

Figura 4.- Cérvix normal⁵³ y cérvix curvo⁵⁴.



1.3.3.2.- Utilidad de la longitud cervical por ecografía transvaginal

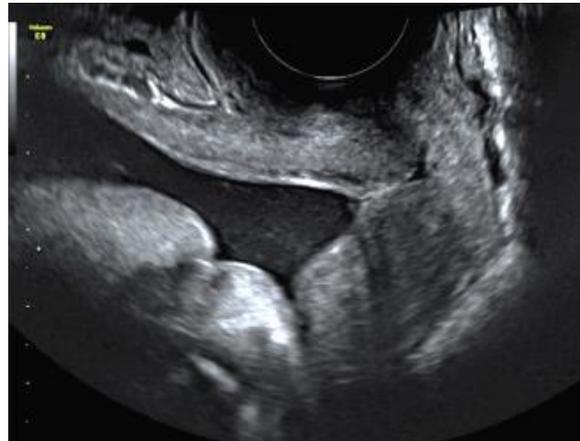
La longitud cervical medida por ecografía transvaginal es un marcador diagnóstico de la verdadera APP por lo que hoy día se considera una prueba básica que ha de formar parte de toda gestante con sospecha clínica de APP^{12,15}, de ahí que esté recomendado que todas las áreas de partos dispongan de un ecógrafo al tratarse de una medida mucho más económica que el uso indebido de fármacos tocolíticos⁵⁵. Debido a que el borramiento cervical comienza en el orificio cervical interno y progresa en sentido caudal es frecuente que se detecte antes por ecografía transvaginal que a la exploración física (figura 5).

La longitud cervical suele mantenerse estable entre la 14 y 28 semanas de gestación, sin embargo es normal que comience a disminuir tras la 28-32 semanas^{56,57}.

- 15 mm – Percentil 2
- 20 mm – Percentil 5

- 25 mm – Percentil 10
- 35 mm – Percentil 50
- 45 mm – Percentil 90

Figura 5.- Cérvix acortado con embudización⁵³.



La mediana de la longitud cervical es 35 mm entre la 22 y 28 semanas y 30 a partir de la 32. La longitud cervical no se afecta por la paridad, raza, etnia o peso materno⁵⁸.

Se ha podido observar la relación entre la longitud cervical y el riesgo de PP, siendo mayor éste cuanto menor es la longitud cervical⁵⁹⁻⁶¹, así como entre riesgo de PP y la edad gestacional a la que se observa este acortamiento cervical⁵⁶.

La longitud cervical se comporta como un marcador independiente de riesgo de PP y en la actualidad se trata de la prueba individual que mejor predice el riesgo de PP⁶². Sin embargo, no existe un punto de corte único universal, existiendo diferentes valores según la sensibilidad y especificidad que se desee alcanzar¹⁹. Algunos estudios consideran emplear un valor ≤ 20 mm para definir un cérvix corto en aquellas pacientes con edad gestacional ≤ 28 semanas que no tienen antecedentes de PP mientras que sería ≤ 25 mm en el caso de que sí lo tuvieran^{63,64}. La SEGO ha venido empleando un punto de corte ≤ 25 mm para definir un cérvix corto^{19,65}; sin

embargo, desde el año 2012 y basándose en un metaanálisis publicado en el año 2010⁴⁶, propone emplear dos puntos de corte distintos en función de las semanas de gestación:

- ≤ 25 mm hasta las 32 semanas
- ≤ 15 mm a partir de las 32 semanas

El metaanálisis de Sotiriadis⁴⁶ y colaboradores sugiere que la longitud cervical medida por ecografía transvaginal en mujeres sintomáticas puede ser empleada para discriminar entre aquellas gestantes con alto riesgo de parto en la semana siguiente a su valoración, calculando un valor predictivo negativo de un cérvix de 15 mm, 20 mm y 25 mm en 94.8%, 96.3% y 95.8% respectivamente. Aunque los valores predictivos son muy similares, la mayor tasa de falsos positivos de los 25 mm a partir de las 32 semanas ha llevado a establecer dos puntos de corte distintos.

A pesar de ello las diferentes sociedades científicas se ponen de acuerdo a la hora de afirmar lo siguiente:

- Un cérvix inferior a 25 mm en el segundo trimestre se asocia a un mayor riesgo de PP⁶⁶⁻⁶⁸.
- Un cérvix con una longitud mayor de 30 mm se considera un cérvix largo, disminuyendo de manera importante la probabilidad de un PP (alto valor predictivo negativo)^{67,68}.

1.3.3.3.- Otros métodos de apoyo al diagnóstico de APP: marcadores bioquímicos

Existe una serie de marcadores bioquímicos que mejoran la predicción del PP basado en la clínica y son tres: la fibronectina fetal (fFN), la proteína 1 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina fosforilada o en inglés “phosphorylated insulin-like grow factor binding protein 1” (pHIGFBP-1) y la alfa microglobulina-1 placentaria o en inglés “placental alpha microglobulin-1” (PAMG-1) (tabla 4). Estos marcadores son sustancias detectables en las secreciones cérvico-

vaginales de las gestantes con APP. La muestra se debe tomar del fondo de saco vaginal evitando manipulaciones previas o el empleo de geles intravaginales que puedan alterar el resultado de la prueba, y siempre antes de realizar la ecografía transvaginal⁶⁹⁻⁷¹.

Tabla 4. Capacidad predictiva de los marcadores bioquímicos de APP¹⁹

Marcadores	VPP		VPN		Sensibilidad		Especificidad	
	7 días	14 días	7 días	14 días	7 días	14 días	7 días	14 días
fFN	32%	39%	89%	89%	56%	61%	76%	78%
phIGFBP-1	39%	46%	92%	92%	69%	72%	78%	80%
PAMG-1	78%	87%	97%	93%	90%	80%	93%	96%

Los marcadores bioquímicos constituyen pruebas adicionales de gran utilidad para descartar el diagnóstico de APP dado su elevado valor predictivo negativo.

- Test de la fibronectina fetal:

La fFN es una proteína de la matriz extracelular presente en la interfaz decidual-coriónica. La interrupción de esta interfaz debido a la infección subclínica o inflamación, rotura de membranas o contracciones uterinas libera fFN en secreciones cérvico-vaginales, que es la base para su uso como un marcador para predecir el PP espontáneo⁷². Sin embargo, su presencia en las secreciones cérvico-vaginales en cantidades pequeñas es normal, aunque no suele aparecer entre las semanas 26 y 34. Un test de la fFN positivo (fFN \geq 50 ng/ml en el líquido cérvico-vaginal) en mujeres con membranas intactas, una dilatación cervical menor de 3 cm, y sin sangrado vaginal se correlaciona con un mayor riesgo de PP dentro de los siguientes siete días.

Este test se utiliza junto con la cervicometría para diferenciar una verdadera APP de una falsa en aquellas gestantes con dinámica pretérmino⁷³. Las mujeres sintomáticas con una dilatación cervical menor de 3 cm y una longitud cervical de 20 a 30 mm tienen un mayor riesgo de PP en

comparación con las mujeres con mayor longitud cervical, pero la mayoría de estas mujeres no tendrán un PP. Por lo tanto, para este subgrupo de mujeres, estaría indicado realizar el test de la fFN y así poder reducir la incertidumbre en el diagnóstico, y a su vez, la intervención innecesaria, de PP dentro de los siguientes siete días.

Si la prueba es positiva, comenzaríamos las intervenciones para reducir la morbilidad asociada con el PP. Si la prueba es negativa, damos de alta a la paciente después de 6 a 12 horas de observación, dado su alto valor predictivo negativo⁷⁴. Para aquellas mujeres cuya longitud cervical sea inferior a 20 mm o superior a 30 mm el test de la fFN no mejora de forma significativa el valor predictivo de la longitud cervical, ya que serían mujeres con un alto y bajo riesgo de PP respectivamente, por lo que su realización no estaría indicada^{75,76}. El resultado de la prueba de fFN puede variar si existe contaminación por orina, plasma seminal o sangre y su uso no está indicado si se ha producido RPM.

- Proteína 1 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina fosforilada:

El phIGFBP-1 es sintetizado y secretado por los hepatocitos fetales, células de la granulosa del ovario y las células deciduales^{77,78}. Durante la gestación la concentración de IGFBP-1 aumenta en el suero de las gestantes conforme lo hace la edad gestacional, y además constituye la principal proteína del líquido amniótico⁷⁹. La forma fosforilada es producida principalmente por células deciduales presentes entre el corion y la decidua. A medida que el cérvix uterino madura y el momento del parto se acerca, el corion y la decidua desprenden phIGFBP-1, la cual comienza a aparecer en la secreción cervical. Es por ello que su presencia en el fluido cérvico-vaginal refleja la activación decidual y dilatación del orificio cervical interno. Al igual que la fFN su principal importancia radica en su elevado valor predictivo negativo a la hora de predecir el PP en los siguientes siete días, empleándose como predictor de PP junto a la cervicometría cuando el cérvix

presenta una longitud entre 20 y 30 mm^{66,80}. El resultado de la prueba no se ve afectado por la presencia de orina ni plasma seminal, pero la sangre materna sí puede interferir en el análisis.

- Alfa microglobulina-1 placentaria:

La PAMG-1 se trata de una proteína que se encuentra en una concentración mil veces mayor en el líquido amniótico que en el fluido cérvico-vaginal (2.000-25.000 ng/ml frente a 0,05 a 2,0 ng/ml)^{81,82,83,84}, es un excelente biomarcador para el líquido amniótico y, por tanto, es útil en la detección de RPM (diagnosticada cuando la concentración de PAMG-1 en fluido cérvico-vaginal es >5 ng/ml). Estudios previos indican que la detección de PAMG-1 en fluidos cérvico-vaginales es altamente precisa y específica, con una sensibilidad del 99 % y una especificidad del 88-100 %^{81,85,86}. Nuevos estudios han confirmado que la presencia de PAMG-1 en el fluido cérvico-vaginal también es un indicador de incremento de riesgo de parto en los siguientes siete días, independientemente de la RPM^{68,87,88}. Esto podría explicarse de la siguiente manera: durante el trabajo de parto existe una inflamación de las membranas amnióticas que podría provocar microperforaciones en las mismas haciendo que se filtraran pequeñas cantidades de líquido amniótico. A su vez también es entendido que muchos de los PP se deben a infecciones del líquido amniótico que llevan a inflamación dando lugar a la producción de enzimas que degradan la matriz extracelular de las membranas fetales. Es por esto que tanto el trabajo de parto como la infección/inflamación del líquido amniótico pueden conducir a pequeñas perforaciones en las membranas fetales que produzcan microinfiltraciones de líquido amniótico en los fluidos cérvico-vaginales⁸⁹⁻⁹². Se ha comparado dicha prueba con el test de la fFN, test más empleado hasta el momento, y se ha observado que cuando el test de la fFN es positivo esta prueba no mejora el valor predictivo de la fFN; sin embargo cuando es negativo sí lo hace. En resumen existe evidencia de que: 1) una prueba positiva para PAMG-1 aumenta el riesgo de infección/inflamación intraamniótica, PP espontáneo y morbilidad neonatal en pacientes con trabajo de PP y membranas intactas; y 2) la prueba también puede ser clínicamente útil como

segunda prueba de nivel después de la determinación de fFN (en caso negativo) en la predicción de tiempo hasta el parto y morbilidad neonatal¹⁸.

1.3.3.4.- Marcadores predictivos en estudio

Además de los numerosos marcadores bioquímicos en estudio, de los que hablaremos a continuación, recientemente han aparecido tres técnicas novedosas para la predicción del PP: la sonoelastografía, la electrohisterografía y pruebas mecánicas cervicales.

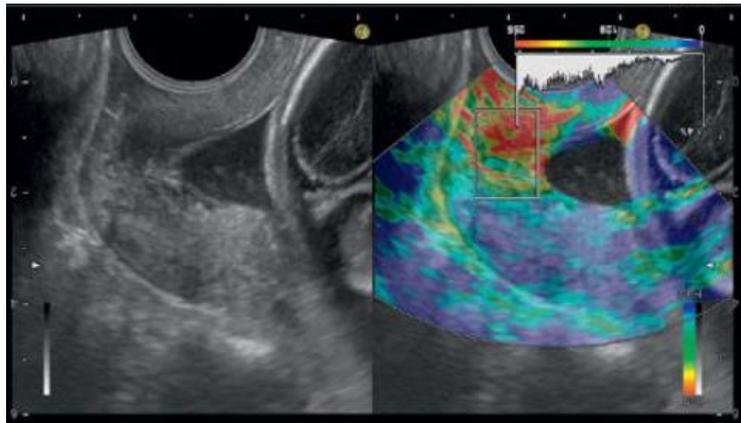
- Sonoelastografía:

Se trata de una técnica muy novedosa para la detección del PP basada en la medición mediante ecografía de la rigidez de los tejidos blandos del cérvix (formado por colágeno en su mayoría) a través de un mapa color (figura 6). La tensión de un tejido se define por el cambio en las dimensiones del mismo durante la compresión dividida por las dimensiones antes de la compresión. Los conceptos básicos para la ecografía basada en las mediciones elastográficas son, en primer lugar, examen de la deformación (tensión) de un tejido debido a la aplicación de una fuerza (elastografía de deformación) y, en segundo lugar, determinación de la velocidad de propagación de una onda cortante a través del tejido (elastografía de ondas de corte)⁹³. Esta técnica apareció en obstetricia como un método objetivo para evaluar el ablandamiento de los tejidos en la región interna del orificio cervical interno en las gestantes que iban a ser sometidas a inducción de parto, demostrándose que aquellas con una inducción exitosa tenían más tejido blando cervical que las que no la tuvieron⁹⁴. Este método ha sido posteriormente validado como método cuantitativo objetivo por varios estudios⁹⁵.

El papel de la sonoelastografía en la maduración cervical es objeto de estudio en la actualidad; mientras que algunos estudios apoyan su utilidad en la inducción de parto y predicción del PP⁹⁶⁻¹⁰¹, otros sin embargo consideran que los resultados son contradictorios y que es demasiado

pronto para utilizar el desplazamiento del tejido elastográfico como reflejo de cambios en la maduración cervical^{95,102,103}.

Figura 6. Imagen de elastografía con una región rectangular de interés. El color rojo en esta región indica tejido blando. Se muestra la distribución del color de verde a rojo en el histograma. El 3.61% del área es azul⁹⁶.



Hernández-Andrade y colaboradores utilizaron la técnica de la deformación elastográfica propuesta por su grupo de estudio para evaluar valores relativos de deformabilidad dentro del cuello uterino. El estudio incluyó 189 mujeres a las 16-24 semanas de gestación y mostró que las mujeres con valores de deformación \leq percentil 25 en el canal endocervical (0,19) y en todo el cuello uterino (0,14) eran un 80% menos propensas a tener un PP que las mujeres con un percentil de deformación \geq percentil 25¹⁰¹.

Un reciente estudio del año 2016 muestra como la sonoelastografía presenta una sensibilidad y especificidad cercana a la longitud cervical para el PP (sensibilidad del 66% y especificidad del 82.4% con un valor predictivo negativo de 82.4%) y que la combinación de ambas incrementa dichos valores de forma importante (valor predictivo negativo de 93.3%)⁹⁶. Sin embargo, se trata de un estudio con un tamaño muestral muy pequeño ($n=30$). Es por ello que aún se necesitan muchos más estudios y con mayores tamaños muestrales para demostrar la utilidad de la sonoelastografía en el diagnóstico del PP.

- Electrohisterografía:

En la última década cada vez más estudios avalan el uso de la electrohisterografía para la predicción del PP inminente. La electrohisterografía consiste en la medición no invasiva de la actividad eléctrica uterina vía abdominal. Tanto el trabajo de parto como el parto en sí son precedidos por dos fenómenos fisiológicos: aumento de la excitabilidad y de la conectividad entre las células miométriales, lo que resulta en un aumento de la propagación de los potenciales de acción que constituyen la base de las contracciones uterinas y se reflejan en la electrohisterografía¹⁰⁴. Se ha demostrado que la electrohisterografía tiene potencial para la monitorización de las contracciones durante el parto^{105,106} así como la detección de contracciones patológicas que conducen a un PP¹⁰⁷. Se han propuesto diversas formas de definirla, incluyendo el contenido espectral utilizando la frecuencia de pico o la mediana de frecuencia de la densidad de potencia espectral, o el cociente entre una banda de frecuencia alta y baja. Alternativamente, la correlación no lineal entre las señales multicanal se ha propuesto para predecir el PP. La velocidad de propagación de la actividad eléctrica, conocida como la velocidad de conducción, ha sido cuantificada para analizar la propagación de ráfagas enteras de la actividad uterina eléctrica¹⁰⁸, o de solo picos dentro de una ráfaga. Recientemente la estimación de la velocidad de conducción basada en la propagación de picos de ráfaga ha sido sugerida como parámetro discriminante de PP inminente¹⁰⁹. El estudio PoPE se trata de un estudio reciente que pretende automatizar la medición de la velocidad y dirección de la amplitud de la velocidad de conducción para conseguir que el método sea reproducible y adecuado para su uso clínico¹¹⁰.

- Pruebas mecánicas:

Un nuevo área de investigación sobre el cérvix está siendo llevado a cabo e incluye dos modalidades: un dispositivo de inflado en globo denominado EndoFLIP® (“Endolumenal

Functional Imaging Probe”) descrito por Hee y colaboradores en 2014, y los dispositivos de aspiración de pipeta mecánicos utilizados en múltiples estudios previos. La utilidad de estos dispositivos radica principalmente en su capacidad para caracterizar la influencia de la parte no colagenosa de la matriz extracelular en la respuesta mecánica del cérvix a la deformación¹¹¹. El dispositivo EndoFLIP® determina las áreas transversales cervicales (diámetros) en 16 sensores a lo largo de una sonda insertada en el canal cervical y su objetivo es captar la variación en dichos diámetros, así como la deformación que se deriva de la presión ejercida en esos diámetros a lo largo del canal cervical¹¹². Los dispositivos de aspiración incluyen una serie de pipetas que se emplean para evaluar el cuello uterino de embarazadas al cuantificar la hidratación del tejido, la estructura del colágeno y/o la elasticidad del tejido y así determinar su potencial para la aplicación clínica y diagnóstico del PP. La técnica de aspiración consiste en aplicar una tensión (presión negativa) en el tejido cervical y así determinar el valor requerido para extraer el tejido cervical a un predeterminado nivel de deformación¹¹³.

A continuación se comentan los marcadores bioquímicos de PP espontáneo que con mayor frecuencia han aparecido publicados en estudios en las últimas cuatro décadas¹¹⁴.

- Estriol en saliva:

El estriol es un derivado natural del estrógeno hormonal que varias semanas antes de que se inicie el PP espontáneo sufre un rápido aumento de su concentración en la saliva, siendo considerado por ello como un posible marcador de riesgo para el PP^{115,116}. Sin embargo, se ha podido comprobar que los niveles de estriol presentan una gran variabilidad diurna y están influenciados por la alimentación, actividad, etc. Dado el alto índice de falsos positivos la Asociación Americana de Obstetras y Ginecólogos no recomienda la determinación de estriol en saliva como prueba indicativa de aumento del riesgo de PP. Otros estudios, sin embargo, defienden el papel del estriol en saliva en la predicción del PP tardío^{117,118}.

- Citoquinas o interleuquinas (IL):

Son glucoproteínas que intervienen en la activación y coordinación de las células del sistema inmune y juegan un papel importante en la fisiopatología del PP. Las más estudiadas han sido la IL-1beta, IL-6, IL-8 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa). Son muchos los estudios que han encontrado niveles aumentados de estas citoquinas en líquido amniótico, suero materno y fluidos cérvico-vaginales en pacientes con APP¹¹⁹. Serán estudiadas con detalle más adelante.

- Metaloproteinasas de la matriz extracelular:

Las metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMP) son unas enzimas proteolíticas, responsables de la renovación y la degradación de las proteínas del tejido conectivo, que participan en diferentes patologías relacionadas con el PP como la RPM pretérmino, la preeclampsia, el retraso del crecimiento intrauterino, la enfermedad pulmonar crónica, la enterocolitis necrosante, la hemorragia intraventricular, la leucomalacia periventricular quística y la retinopatía del prematuro¹²⁰. Son varias las MMP que se han asociado al PP, pero especialmente lo ha hecho la MMP-9, la cual incrementa sus niveles en suero 24 horas antes del inicio del trabajo de parto, habiendo sido relacionado este aumento con la aparición de RPM^{121,122}.

- Proteína C reactiva:

La proteína C reactiva (PCR) es un biomarcador de fase aguda asociado con la respuesta inmune innata¹²³. La mayor parte de ella es producida por los hepatocitos, aunque su síntesis también ha sido demostrada por parte de las células pulmonares y renales. La producción de PCR se estimula principalmente por la IL-6, IL-1beta y el TNF-alfa como reacción de los tejidos a la infección o inflamación.

Se ha demostrado que la PCR aumenta a medida que lo hace la gestación y además se asocia positivamente a la paridad e índice de masa corporal (IMC) pregestacional, presentando las mujeres obesas embarazadas un aumento más pronunciado de las concentraciones de PCR¹²⁴.

La PCR en el suero materno se ha asociado con la presencia de infección intrauterina, y por consiguiente, con un aumento del riesgo de PP, pudiendo incluso predecir la respuesta al tratamiento tocolítico¹²⁵⁻¹²⁷. Howman y colaboradores observaron un aumento significativo de la respuesta inflamatoria materna en la evaluación de la PCR en las mujeres con corioamnionitis histológica¹²⁸. Sin embargo, una revisión por Martínez y su grupo concluyó que no había pruebas que apoyaran el uso de la PCR como herramienta para la predicción de la corioamnionitis histológica¹²⁹. Un estudio publicado en el año 2016 encontró sólo una débil asociación entre los niveles séricos maternos de PCR y la infección amniótica junto con corioamnionitis histológica¹³⁰.

Hvilsom y colaboradores en 2002 fueron el primer grupo de investigadores que informaron de que elevadas concentraciones de PCR en el suero materno durante etapas tempranas de la gestación estaban relacionadas con un incremento en el doble de riesgo de PP¹³¹. Así mismo también se han encontrado concentraciones elevadas de PCR en el suero de gestantes con APP comparadas con gestantes a término¹³². Estos hallazgos han sido corroborados por algunos¹³³⁻¹³⁹, pero no por otros^{129,140,141}. Una revisión del año 2010 muestra cómo se encuentran niveles aumentados de PCR en el líquido amniótico pero no en el plasma de gestantes asintomáticas que posteriormente desarrollan PP¹¹⁹.

- Biomarcadores relacionados con el estrés: CRH, ACTH, cortisol y urocortina.

Es sabido que el estrés es un factor de riesgo de PP debido a la activación del eje hipotálamo-hipofisario-suprarrenal (HHS). El último trimestre de la gestación está marcado por niveles séricos ascendentes de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) proveniente de la placenta. Esta hormona actúa con la hormona adrenocorticotropa o corticotropina (ACTH) para

aumentar la síntesis de hormonas esteroideas suprarrenales del adulto y fetales, incluyendo el inicio de la biosíntesis de cortisol fetal. Las concentraciones cada vez más altas de cortisol materno y fetal incrementan más la secreción placentaria de CRH, lo que establece una cascada endocrina con retroalimentación positiva que no termina sino hasta el parto. Hay muchos estudios que postulan que el aumento prematuro de CRH induce la pérdida temprana de la quiescencia uterina¹⁴². Sin embargo, la amplia variación en la concentración de CRH entre las embarazadas hace que una determinación aislada de la CRH tenga poca sensibilidad¹⁴³. La urocortina, un neuropéptido muy similar a la CRH que actúa como ligando de sus receptores, ha demostrado en estudios recientes que puede ser eficaz como nuevo marcador bioquímico del pp¹⁴⁴.

- Relaxina:

La relaxina es una hormona que, al igual que las MMP, produce la degradación del colágeno e induce la aparición de RPM a través del aumento en las MMP-1, 3 y 9¹⁴⁵.

- La proteína A del plasma asociada al embarazo (PAPP-A):

La PAPP-A es una glucoproteína producida en el trofoblasto placentario. Niveles descendidos de la misma en el primer trimestre del embarazo se han relacionado, además de con fetos afectados de síndrome de Down, con mayor riesgo de PP. Esto podría ser explicado mediante una invasión trofoblástica defectuosa que conllevaría a la aparición de RPM y posterior PP^{146,147}.

- Otros:

Existe una inmensa cantidad de sustancias bioquímicas que han sido estudiadas en relación con el PP entre las que se encuentran las siguientes: factores angiogénicos, gonadotropina coriónica humana-beta, alfa-fetoproteína¹⁴⁸, dopamina, noradrenalina, androstendiona, lactoferrina,

ferritina, transferrina, progesterona, prolactina, lactógeno placentario, complemento C3, procalcitonina, activina A, integrinas¹¹⁴, etc.

Un reciente estudio multicéntrico llevado a cabo por Saade y colaboradores ha evaluado la utilidad de dos proteínas séricas en el riesgo de PP en gestantes asintomáticas entre las 17 y las 28 semanas de embarazo. Se trata de un predictor sérico materno que comprende la relación de la proteína 4 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina y la globulina fijadora de hormonas sexuales (IBP4 / SHBG) en base a un logaritmo que identifica hasta el 75% de las gestantes que están destinadas a tener un PP¹⁴⁹.

I.3.4.- Valoración de la gestante con síntomas de amenaza de parto prematuro

La evaluación clínica de la gestante con sospecha de APP debe de incluir¹⁹:

- Revisión de la historia médica y obstétrica así como correcta datación de la gestación.
- Examen físico que incluya la altura uterina y presentación fetal.
- Especuloscopia. No siempre está indicada pero es aconsejable su realización para descartar cualquier tipo de infección vaginal así como la presencia de restos hemáticos.
- Longitud cervical mediante ecografía transvaginal. El tacto vaginal se reservará para aquellos casos en los que se sospeche dilatación cervical por ecografía y/o parto en fase activa.
- Ecografía básica para valoración de viabilidad fetal, líquido amniótico y localización placentaria. La estimación de peso se llevará a cabo sólo en aquellos casos donde se intuya parto inminente y no se disponga de ecografías previas.
- Cardiotocografía externa para valoración de dinámica uterina y bienestar fetal.
- Análisis de laboratorio. Se deben reservar para aquellas pacientes que precisen ingreso y diagnóstico diferencial de la APP con corioamnionitis, infección del tracto urinario, etc;

dado que la mayoría de las gestantes que acuden con síntomas de PP no precisan ingreso¹⁵⁰. Entre estas pruebas tenemos:

- Sedimento/urocultivo.
- Exudado vagina-rectal para despistaje del estreptococo del grupo B (SGB).
- Cultivo vagina-cervical (opcional).
- Test de la fFN: opcional en aquellas pacientes que presenten una dilatación cervical menor a 3 cm y una cervicometría entre 20-30 mm⁷³.

La amniocentesis no está indicada como prueba en la valoración inicial de una gestante que acude con síntomas de APP. En la actualidad su uso como método diagnóstico forma parte de trabajos de investigación para conocer el origen de la APP, dado que su utilidad clínica aún no ha sido ampliamente demostrada¹⁹. Varios estudios han demostrado que la infección o inflamación intraamniótica es causa de APP, siendo ésta más frecuente cuanto menor es la edad gestacional. Se ha visto que cuanto menor es la longitud cervical y la edad gestacional mayor es la probabilidad de que exista una invasión microbiana de la cavidad amniótica con membranas íntegras; sin embargo por encima de las 32 semanas este hallazgo es poco frecuente¹⁵¹. También se ha relacionado el PP con niveles elevados de IL-6 y MMP-8 en líquido amniótico, especialmente por debajo de las 28 semanas¹⁵².

1.4.- Factores de riesgo de parto prematuro

La identificación de los factores de riesgo conocidos para padecer PP al comienzo del embarazo es un paso fundamental para establecer el tipo de control que se debe llevar a cabo con cada gestante. Si se clasifica adecuadamente a las embarazadas en función del riesgo *a priori* de padecer complicaciones como el PP se puede llevar a cabo una distribución racional de los recursos de acuerdo a las necesidades. Por ello, las actuales recomendaciones nacionales de la SEGO insisten en la importancia de realizar una adecuada identificación de los riesgos en la

primera visita prenatal de modo que se puedan relajar los controles en aquellas embarazadas de bajo riesgo y concentrar los esfuerzos destinados a una vigilancia más intensiva en aquellos casos que acumulen mayores riesgos.

Si bien es cierto que el PP puede producirse en cualquier embarazo, también lo es que algunas mujeres son más propensas que otras. Se han identificado una serie de características sociodemográficas asociadas a un mayor riesgo de PP.

- Antecedentes personales de parto prematuro:

Se trata del principal factor de riesgo del PP espontáneo. Las mujeres con antecedentes de nacimiento prematuro presentan un riesgo considerablemente mayor de que esto se repita, sobre todo a la misma edad gestacional que ocurrió la primera vez^{153,154}. Sin embargo, la mayoría de gestantes que tuvieron un PP tendrán gestaciones posteriores a término y la mayoría de neonatos nacidos pretérmino no tienen madres con un PP anterior^{155,156}. El riesgo de tener un PP tras un primero es de un 15-30%, mientras que tras dos PP la probabilidad asciende al doble (60%)¹⁵⁵⁻¹⁵⁸. Las mujeres que nacieron pretérmino tienen más probabilidades de sufrir un PP espontáneo.

- Abortos previos:

El aborto espontáneo, especialmente si es recurrente o en el segundo trimestre de la gestación, se ha relacionado con un incremento de riesgo de PP¹⁵⁹. En el caso del aborto provocado o interrupción voluntaria del embarazo no está tan claro, pues aunque existen estudios retrospectivos que parecen indicar que sí existe una relación la mayor parte de estos estudios son defectuosos y contienen gran cantidad de sesgos.

- Intervalo corto entre embarazos:

Un intervalo intergestacional corto está reconocido como un factor de riesgo de PP^{160,161}. En un metaanálisis de 2006, un intervalo gestacional menor a 6 meses se asoció con un aumento del 40% en el riesgo de PP¹⁶². Posteriores estudios publicados han confirmado estos resultados^{163,164}. El PP tardío (entre 34 y 36 semanas) no se correlacionó con un intervalo gestacional corto.

- Técnicas de reproducción asistida:

Gestaciones únicas conseguidas mediante fecundación in vitro, con o sin inyección intracitoplasmática, presentan un mayor riesgo de PP y bajo peso al nacer (≤ 2500 g) en comparación con los embarazos concebidos de forma espontánea^{165,166}. Aunque no se conocen exactamente los motivos se barajan varias hipótesis: elevado nivel de ansiedad en las parejas sometidas a tratamientos de reproducción, la infertilidad parece causar resultados desfavorables sobre el embarazo y el uso de múltiples medicamentos¹⁶⁷.

- Nivel socioeconómico bajo:

Son varios los estudios que han relacionado un bajo nivel socioeconómico con un incremento en el riesgo de PP. Sin embargo un estudio reciente¹⁶⁸ muestra resultados menos llamativos e incluso contradictorios al ajustar el nivel socioeconómico a factores como la edad, paridad, estado civil, el peso y el tabaquismo; ya que éstos atenúan esta asociación sugiriendo que el estilo de vida y otros factores median el exceso de riesgo de la posición socioeconómica sobre el PP.

- Gestación múltiple:

Supone hasta el 17% de todos los nacimientos por debajo de las 37 semanas y hasta el 23% de aquellos por debajo de las 32¹⁶⁹. Las técnicas de reproducción asistida han dado lugar a un aumento de las gestaciones múltiples (gemelos, trillizos, etc.) y esto a su vez a un aumento en

el PP. En el caso de las gestaciones múltiples el PP se relaciona con la sobredistensión uterina, incompetencia cervical y el ambiente hormonal incrementado en los niveles de estrógenos, progesterona y esteroides sexuales¹⁷⁰.

- Edad materna y raza:

Las edades extremas (adolescentes y mujeres mayores de 40 años) se relacionan con el PP, así como la raza. En los EEUU las mujeres de raza negra presentan una tasa más elevada de PP que las de raza blanca¹⁷¹. Además también se ha visto una relación entre la edad materna y la raza, pudiéndose demostrar que las adolescentes de raza blanca (caucásica) presentan mayor riesgo de prematuridad extrema y muy extrema que las negras o hispánicas, mientras que las primíparas añosas de raza negra o hispánica presentan mayor riesgo de PP moderado y extremo que las blancas¹⁷². Esto podría estar relacionado con factores tanto genéticos como ambientales (por ejemplo factores sociales, educativos, laborales o económicos).

- Índice de masa corporal:

Un peso extremo antes del embarazo (tanto bajo como alto) así como el IMC se han asociado con mayores tasas de PP¹⁷³. Un IMC <18,5 antes o durante el embarazo supone un incremento de riesgo de PP espontáneo mientras que un IMC >30 lo incrementa por indicación médica (diabetes, HTA, preeclampsia). Una ganancia alta o baja de peso durante el embarazo también se ha asociado con el PP¹⁷⁴ y este efecto también parece estar relacionado con la raza/origen étnico¹⁷⁵.

Por otro lado, la ganancia ponderal durante el embarazo por debajo o por encima de los límites establecidos según el IMC pregestacional también supone un mayor riesgo de PP¹⁷⁶. La ganancia ponderal recomendada durante la gestación según el IMC previo a la misma es:

- IMC <18,5: 13-18Kg
- IMC 18,5-25: 11-16 Kg.
- IMC > 25: 7-11 Kg.

Sin embargo, la fuerza de esta asociación no está bien definida debido a que el efecto es bimodal y a variables interdependientes¹⁷⁷. Por ejemplo, el bajo peso antes del embarazo puede ser confundido por el estatus socioeconómico, la raza/origen étnico e incluso el aumento de peso durante el embarazo.

- Estrés:

La asociación entre el estrés (incluyendo el trastorno de estrés postraumático) y el PP tiene una explicación biológica. El sistema neuroendocrino, vascular, inmune e inflamatorio son muy susceptibles al estrés y por otro lado hay situaciones como la malnutrición, las infecciones, la hipoxia o las alteraciones vasculares que influyen de manera importante sobre el estrés o en sí mismos pueden causarlo. Sobre estas circunstancias yace una base de regulación genética y epigenética que hace que cada una de las personas responda de manera diferente al estrés¹⁷⁸. Hay pruebas de que el estrés materno y fetal activa células en la placenta, decidua y membranas fetales para producir la CRH. La CRH propicia la producción de prostaglandinas a nivel local, lo que inicia las contracciones uterinas. Sin embargo, los estudios no han demostrado consistentemente una relación entre el estrés materno, la concentración de CRH y el PP^{179,180}. El estrés psicosocial materno también se ha asociado con un mayor riesgo de PP, sin embargo el riesgo era modesto, de aproximadamente 1,5 a dos veces en grandes estudios prospectivos¹⁸¹. A pesar de que el apoyo social durante el embarazo ha dado lugar a mejoras en el resultado psicosocial inmediato, no ha demostrado reducir significativamente la tasa de PP¹⁸².

- Tabaquismo:

El hábito de fumar tiene una relación dependiente de la dosis con el riesgo de PP, observándose un incremento considerable de éste cuando el consumo materno es igual o mayor a 10 cigarrillos al día¹⁵⁴. El tabaco no sólo es considerado un factor de riesgo independiente de PP sino que también aumenta las tasas de complicaciones en el embarazo tales como desprendimiento prematuro de placenta normoinsera, RPM y crecimiento intrauterino restringido¹⁸³.

- Actividad física y trabajo:

Existen varios mecanismos por los que la actividad física materna podría aumentar la incidencia de PP, tales como la reducción del flujo sanguíneo uterino o un aumento de las hormonas del estrés como las catecolaminas o la CRH. Sin embargo la relación entre actividad física materna y el PP aún no ha sido claramente establecida. Algunos estudios relacionan el número de horas de actividad/estar de pie con una mayor incidencia de PP^{184,185}, mientras que otros no encuentran esta asociación¹⁸⁶⁻¹⁸⁸. Los que sí encuentran esta relación muestran como no es el trabajo en sí el que aumenta el riesgo de PP sino las condiciones del mismo, existiendo un exceso de riesgo si trabajan más de 36-42 horas a la semana, pasan más de 6 horas diarias de pie, cargan mucho peso, tienen un ambiente de trabajo ruidoso y/o no están contentas con el mismo¹⁸⁹. Los que no encuentran esta relación entre el trabajo/ejercicio físico con el PP han encontrado incluso una reducción del riesgo de PP al aumentar el tiempo dedicado a actividades de ocio de moderada a alta intensidad entre tres y cinco veces por semana. Este beneficio se ha mostrado en el segundo y tercer trimestre de la gestación¹⁹⁰.

- Relaciones sexuales:

No se ha demostrado que el hecho de mantener relaciones sexuales durante el embarazo aumente el riesgo de PP¹⁹¹.

- Dieta:

Algunos estudios sugieren que el bajo consumo de ácidos grasos omega-3 puede conllevar un incremento de riesgo de PP¹⁹². Sin embargo no existe un claro efecto de la dieta sobre la duración del embarazo¹⁹³.

- Abusos de sustancias:

La cocaína es la droga que con mayor frecuencia se ha asociado a PP (multiplica por cuatro el riesgo)¹⁹⁴. Sin embargo, el PP también se ha relacionado con el alcohol así como con el consumo de múltiples drogas^{195,196}.

- Infecciones:

- Tracto genital: múltiples estudios han mostrado la relación entre PP y la colonización del tracto genital inferior por SGB¹⁹⁷, *Chlamydia trachomatis*¹⁹⁸, vaginosis bacteriana¹⁹⁹, *Neisseria gonorrhoeae*, sífilis²⁰⁰, *Trichomonas vaginalis*²⁰¹ y más recientemente *Haemophilus influenzae*²⁰². Aunque no se conoce bien el mecanismo por el que estos microorganismos pueden causar PP sí que se ha demostrado la presencia de bacterias propias de las vaginosis bacterianas en el líquido amniótico de gestantes con APP¹⁹⁹. Los factores genéticos, especialmente los genes que controlan la respuesta inmune a las bacterias vaginales, parecen jugar un papel importante en el riesgo de PP y pueden explicar las diferencias en las tasas de nacimientos prematuros entre las mujeres con vaginosis bacteriana.
- Orina: no está claro que la bacteriuria asintomática se asocie a PP²⁰³. Un estudio prospectivo a gran escala que estudió más de 25000 nacimientos mostró que no existía relación entre la bacteriuria asintomática y el PP cuando se ajustaron los datos para factores sociodemográficos²⁰⁴. El tratamiento de la bacteriuria asintomática sí ha

demostrado disminuir la incidencia de pielonefritis, lo cual puede explicar la disminución de la incidencia en algunos análisis²⁰⁵.

- Periodontales: existen varios estudios que relacionan la enfermedad periodontal con el PP debido a que se han hallado patógenos orales en el líquido amniótico de gestantes con APP^{206,207}. Existen varias hipótesis que explican dicha relación²⁰⁸. La enfermedad periodontal puede causar PP por la translocación de los patógenos periodontales a la unidad fetoplacentaria o a través de las acciones de los mediadores de la inflamación de origen periodontal. Otra alternativa consiste en que la presencia de enfermedad periodontal es un marcador de individuos que tienen una predisposición genética hacia una respuesta inflamatoria local o sistémica exagerada a un estímulo dado (por ejemplo, bacterias), que conduce a dos eventos clínicos adversos la enfermedad periodontal y el PP. Estos individuos también pueden ser hiperrespondedores a las bacterias vaginales con una mayor producción de citoquinas que conducen a un PP o a la RPM. Por lo tanto, la enfermedad periodontal y el PP pueden ser vinculados epidemiológicamente pero no estar relacionados causalmente. Es por ello que actualmente no podemos obtener una conclusión clara de que la enfermedad periodontal conduzca a resultados obstétricos adversos^{209,210}.
- La malaria: esta enfermedad infecciosa se ha relacionado con PP, bajo peso al nacimiento y otras morbilidades maternas y fetales. El tratamiento de la misma mejora los resultados obstétricos²¹¹.
- Rotura prematura de membranas:

La RPM pretérmino ocurre en el 2-4% de las gestaciones y el intervalo de tiempo hasta el parto suele ser de una semana o más. El tiempo de latencia tiende a ser mayor cuanto menor es la

edad gestacional en el momento de la rotura. Su importancia radica en que está asociada a un 30-40% de los casos de prematuridad, con la morbilidad y mortalidad que ésta conlleva^{212,213}.

- Hemorragia genital anteparto:

La hemorragia decidual manifestada como sangrado vaginal en el primer y/o segundo trimestre se asocia con un mayor riesgo de PP y RPM. Las mujeres con sangrado vaginal persistente presentan mayor riesgo de estas complicaciones que aquellas en las que se presenta como un evento aislado²¹⁴.

- Factores genéticos:

Existen algunas teorías que apoyan un posible origen/predisposición genética del PP dados los siguientes hallazgos:

- Las mujeres que han tenido un PP tienen mayor riesgo de sufrir un nuevo PP en otra gestación²¹⁵.
- Los nacimientos prematuros repetitivos tienden a repetirse a la misma edad gestacional que los anteriores.
- Las mujeres que fueron prematuras tienen más riesgo de sufrir un PP espontáneo^{216,177}.
- Las mujeres cuyas hermanas tuvieron un PP presentan un riesgo 80% superior de tener un PP²¹⁵.
- Parece existir una predisposición racial al PP: las madres afroamericanas son más propensas que las madres hispanas que, a su vez, son más propensas que las madres caucásicas^{217,218}. Un estudio encontró que el aumento de la susceptibilidad de las mujeres afroamericanas al PP puede ser mediada, al menos en parte, por un locus de susceptibilidad en el cromosoma 7²¹⁷.
- La respuesta inflamatoria a las infecciones vaginales también parece tener una predisposición genética, siendo nocivo tanto el exceso como el defecto. Se ha visto

como algunas mujeres embarazadas que respondieron a la colonización vaginal de bacilos gram negativos anaerobios y/o Gardnerella vaginalis con una respuesta inmune proinflamatoria excesiva tenían un mayor riesgo de PP espontáneo²¹⁹. Estas hiperrespondedoras se caracterizan por un alto nivel de vaginal de IL-1beta o una proporción disminuida de IL-1RA (antagonista de IL-1beta). Las mujeres con una respuesta subóptima pro-inflamatoria también están en mayor riesgo de desarrollar un PP. En estas mujeres, una respuesta inmune menor puede crear un entorno permisivo para la infección ascendente y sus secuelas (corioamnionitis, PP,RPM)²²⁰.

- Genoma materno:

Se han descrito varias alteraciones en alelos maternos que predisponen a un ambiente infeccioso/inflamatorio capaz de desencadenar un PP²²¹. Por un lado se ha visto que mujeres de raza negra portadoras del alelo IL-1, 6 y 8 que presentan vaginosis bacteriana tienen un riesgo dos veces superior de PP con respecto al de las caucásicas^{222,223} y otro estudio ha encontrado un incremento en el riesgo de PP entre aquellas gestantes que presentan el alelo menos común del TNF-alfa (TNF-2) al suponer un aumento en las cantidades de esta citoquina²¹¹. El bajo peso al nacimiento en relación al tabaco también parece ser modificado por ciertos polimorfismos genéticos²²⁴.

- Polimorfismos genéticos:

Aunque la mayoría de estudios no presentan suficiente fuerza para llevar a cabo relaciones concluyentes, algunos han detectado polimorfismos de un nucleótido en los genes de las citoquinas que intervienen en la génesis del PP^{225,226}.

- Cérvix corto:

Un cuello uterino corto (< 25 mm) en la ecografía realizada entre las 16 y las 24 semanas de gestación es particularmente predictivo de PP (ver “Marcadores de riesgo [predictivos] de parto prematuro en gestantes asintomáticas”).

- Cirugía uterina previa y anomalías uterinas congénitas:

Los procedimientos ablativos y de escisión cervical empleados para el tratamiento de neoplasias intraepiteliales cervicales se asocian a abortos tardíos y nacimientos prematuros. Son varios los motivos que lo provocan: la disminución de la cantidad de colágeno cervical da lugar a una disminución de la resistencia a la tracción del útero, la eliminación de las glándulas productoras de moco pueden aumentar la susceptibilidad a la infección ascendente de la cavidad amniótica, la cicatrización posterior del cérvix puede disminuir la plasticidad del mismo haciendo el embarazo más vulnerable a la RPM. Por todo ello es esencial que en las conizaciones cervicales se elimine única y exclusivamente la cantidad mínima de tejido necesario para curar la neoplasia. Las malformaciones uterinas congénitas y adquiridas también se asocian con PP y el riesgo depende de la anomalía específica. Por ejemplo el útero unicorno se asocia a una tasa de PP del 17%²²⁷ mientras que el útero doble del 25%²²⁸. Parece que existe un mayor riesgo de aborto recurrente asociado con septos más largos, pero esto es controvertido y muchas mujeres no tratadas tienen embarazos con buenos resultados. Los porcentajes revelados en la literatura para el útero septo muestran una tasa de aborto espontáneo entre un 21-44%, de PP entre 12-33%, y de nacimiento vivo entre 50-72%²²⁹. Los miomas uterinos (especialmente los de un tamaño superior a 5-6 cm), se asocian a mayor riesgo de PP debido a una disminución del volumen luminal uterino y/o incompetencia cervical²³⁰.

- Enfermedades crónicas:

La hipertensión arterial, insuficiencia renal, diabetes mellitus tipo 1, enfermedades autoinmunes como el hipotiroidismo o la enfermedad inflamatoria intestinal²³¹ y la anemia < 11 g/dl en el primer trimestre del embarazo²³² se asocian con mayor riesgo de PP.

- Factores fetales:

El crecimiento intrauterino restringido²³³, anomalías congénitas que cursan con polihidramnios así como el sexo fetal varón se han asociado con mayor riesgo de PP en diversos estudios. El estudio histológico placentario tras corioamnionitis ha demostrado como ésta es más frecuente cuando el sexo fetal es masculino, esto podría explicarse mediante una reacción inmune materna al tejido fetal²³⁴.

- Factores paternos:

No se han descrito factores paternos que se relacionen con un mayor riesgo de PP hasta la fecha.

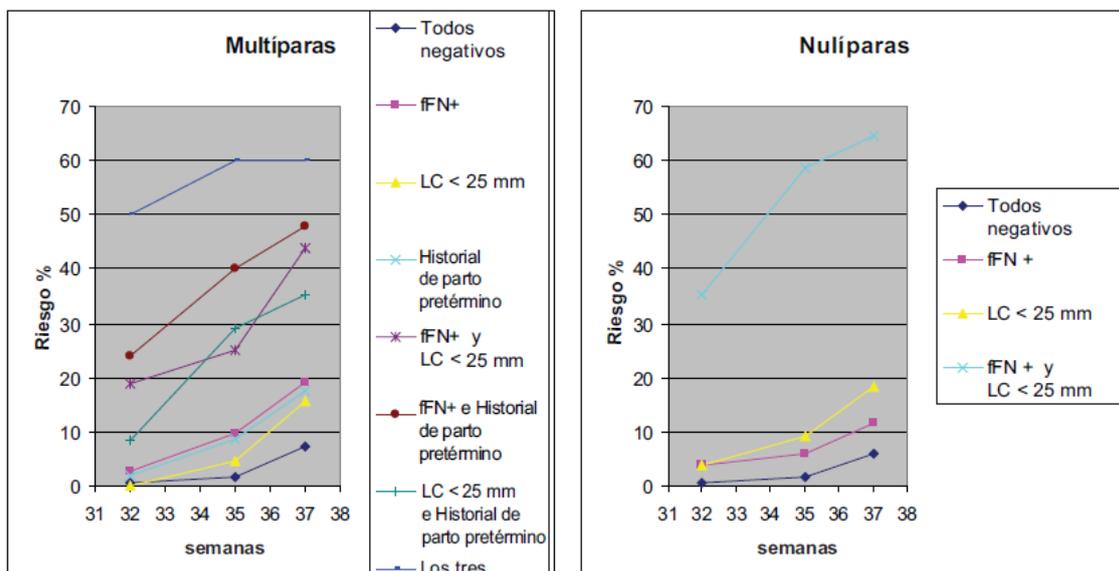
I.4.1.- Sistemas de calificación del riesgo de parto prematuro

Encontrar un único factor o marcador de riesgo capaz de predecir de forma eficaz el PP es muy improbable y esto es debido a la etiología multifactorial del PP. Es por ello que desde hace tiempo se elaboran tablas o algoritmos que mejoren considerablemente el índice de éxito de cualquier marcador individual en la predicción del nacimiento prematuro. Se han creado muchos modelos: algunos basados sólo en factores de riesgo (tabla 5) y otros en una combinación del historial obstétrico, marcadores bioquímicos y longitud cervical (figura 7)²³⁵⁻²³⁷.

Tabla 5.- Sistema de puntuación de factores de riesgo²³⁸:

FACTORES DE RIESGO	
Puntos asignados	
•	1 punto - 1 aborto espontáneo
•	2 puntos - 2 abortos espontáneos
•	2 puntos - hemorragia vaginal < 10 semanas
•	2 puntos – infección del tracto urinario en el embarazo
•	2 puntos - tabaquismo
•	2 puntos - edad > 40 años
•	3 puntos - > 2 abortos espontáneos
•	3 puntos - > 3 abortos inducidos
•	4 puntos - < 18 años
•	10 puntos - PP anterior
•	10 puntos - cerclaje cervical
•	10 puntos – gestación múltiple
•	10 puntos – anomalía uterina

Figura 7.- Riesgo de PP a diversas edades gestacionales y con diversas combinaciones de factores de riesgo en mujeres nulíparas y multíparas²³⁹



1.5.- Marcadores de riesgo (predictivos) de parto prematuro en gestantes asintomáticas

La gran mayoría de mujeres que presentan un PP no tienen factores de riesgo, correspondiendo más del 50% de todos los PP a gestaciones de bajo riesgo.

Dado que el intervalo que transcurre desde que aparece la noxa o causa del PP hasta que el mismo acontece suele ser muy pequeño, de días hasta 1 ó 2 semanas habitualmente, es muy difícil identificar marcadores que nos pueden hacer sospechar que una mujer asintomática va a desencadenar un PP. En la actualidad no existe ninguna prueba capaz de identificar, antes de la manifestación de los síntomas, a las mujeres con riesgo elevado de PP.

Como ya conocemos, la longitud cervical es el parámetro que mejor predice el riesgo de PP en una mujer con síntomas de APP. El borramiento cervical es uno de los primeros pasos en el proceso del PP y puede antecederlo incluso varias semanas antes. Se sabe que a medida que disminuye la longitud cervical en el segundo trimestre aumenta el riesgo de PP espontáneo, sobre todo cuando el borramiento cervical se inicia a principios del segundo trimestre^{57,62}. El establecer o no un cribado de la longitud cervical ha sido objeto de controversia durante muchos años:

- En el año 2011 la Sociedad de Obstetras y Ginecólogos de Canadá llegó a la conclusión de que la evaluación cervical de rutina no se recomendaba para las gestantes de bajo riesgo de PP²⁴⁰.
- En el 2012 el Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos no se pronunció a favor ni en contra del cribado universal en mujeres que no tenían antecedentes de PP²⁴¹, sin embargo sí que recomendaban medir la longitud cervical cuando las pacientes fueran a ser sometidas a una ecografía obstétrica en el 2º trimestre siempre y cuando fuera clínica y técnicamente posible.

- Una revisión Cochrane del año 2013 no encontró suficiente evidencia para recomendar el cribado de la longitud cervical de rutina para todas las mujeres embarazadas²⁴². El principal motivo es que la mayoría de los ensayos no presentan un protocolo claro de tratamiento de las gestantes en base a la longitud cervical, además de incluirse poblaciones muy heterogéneas (embarazos únicos vs múltiples, sintomáticas vs asintomáticas, membranas intactas vs RPM, etc).
- La principal justificación de la implementación de un cribado universal es la opción de las pacientes a un esquema de prevención efectivo (tabla 6). Afortunadamente, en los últimos años existe suficiente evidencia que postula que la adición de progesterona natural a mujeres asintomáticas con historia previa de parto prematuro y/o con cérvix corto en la evaluación ultrasonográfica de rutina en el segundo trimestre de la gestación, reduce significativamente el riesgo de PP espontáneo^{57,64}. En los años 2014 y 2015 han aparecido varios estudios y revisiones que avalan el uso de un cribado cervical de rutina en todos los embarazos únicos²⁴³⁻²⁴⁶. No resulta útil en gestaciones múltiples pues no se ha demostrado que exista ninguna intervención médica eficaz (ni progesterona ni cerclaje cervical) para disminuir el riesgo de PP en estos casos.

Tabla 6.- Cribado de la longitud cervical avalado por la mayoría de los estudios²⁴⁷.

AP	Screening (cervicometría)	Frecuencia
No PP previo	Una medición entre 18-24 sem	Una vez
PP entre 28-36 semanas	Medición entre las 16 y las 24 semanas	Cada 2 semanas si cervicometría \geq 30 mm. *
PP entre 14-27 semanas	Medición entre las 14 y las 24 semanas	Cada 2 semanas si cervicometría \geq 30 mm. *

* Realizar semanalmente si cervicometría entre 25-29 mm. Si cervicometría $<$ 25 mm considerar cerclaje cervical.

La dosis indicada de progesterona serían 200 mg al día para aquellas mujeres con un cérvix inferior a 20 mm si no tienen antecedentes de PP e inferior a 25 mm si tienen antecedentes de PP en gestaciones únicas.

I.6.- Fisiopatología del parto prematuro

Durante la mayor parte del embarazo el útero se mantiene en un estado de quiescencia funcional debido a la acción de varios inhibidores como la progesterona, relaxina, óxido nítrico, etc²⁴⁸. Llegado el momento, no se sabe con certeza pero la mayoría de los estudios apuntan a que la duración del embarazo está relacionado con el genoma fetal y el momento en que se produce su maduración, la glándula suprarrenal fetal segrega cortisol que a su vez estimula la ACTH pituitaria encargada de desencadenar toda la cascada del parto. Esta cascada hormonal iniciada por el despertar del eje HHS produce un aumento de la expresión de una serie de proteínas de la contracción (incluidos los receptores del miometrio para prostaglandinas y oxitocina) y la activación de canales de iones específicos. Después de la activación, el útero "preparado" puede ser estimulado para contraerse por la acción de los agonistas uterotónicos, tales como las prostaglandinas E2, F2-alfa y la oxitocina. Los niveles circulantes de oxitocina no cambian significativamente durante el embarazo o antes de la aparición del trabajo de parto. Sin embargo, las concentraciones de los receptores de la oxitocina del miometrio aumentan de aproximadamente 100 a 200 veces durante el embarazo, alcanzando un máximo durante el trabajo de parto temprano²⁴⁹. Este aumento de la concentración de receptores explica el aumento de la sensibilidad del miometrio a los niveles circulantes de oxitocina durante la segunda mitad del embarazo. La oxitocina también actúa a través de canales de calcio para afectar a las vías bioquímicas intracelulares y promover las contracciones uterinas a la misma vez que incrementa de forma indirecta la producción de prostaglandinas a nivel decidual y del amnios. Es poco probable que la oxitocina proporcione el disparador para el inicio del trabajo

de parto, pero la liberación de oxitocina durante el trabajo de parto deriva en contracciones uterinas más fuertes y, sin duda, facilita la salida del feto y la placenta.

El 70% de los PP ocurren espontáneamente como resultado de un trabajo de PP (45%) o RPM (25%); mientras que el 30% restante se debe a problemas maternos o fetales (descritos en la sección de factores de riesgo de PP). Los estudios realizados sobre epidemiología y la fisiopatología del PP sugieren cuatro procesos que pueden conducir al nacimiento prematuro.

- 1.- Activación prematura materna o fetal del eje HHS
- 2.- Respuesta infecciosa/inflamatoria exagerada
- 3.- Hemorragia decidual
- 4.- Distensión uterina

Cada uno de estos cuatro procesos deriva en el mismo proceso final, con aparición de contracciones uterinas, acortamiento y dilatación cervical, rotura de membranas y, finalmente, PP. A continuación pasaremos a describir cada uno de estos procesos.

- 1.- Activación del eje HHS:

El estrés psicológico y/o físico, así como la ansiedad y la depresión, pueden activar el eje materno HHS de forma prematura y desencadenar un PP^{250,251}. La activación del eje HHS fetal parece estar relacionada con la vasculopatía útero-placentaria y presenta una mayor correlación con el PP que el estrés materno²⁵².

El mecanismo que explica como la activación del eje HHS fetal produce PP es el siguiente:

- Incremento en la producción y liberación placentaria de la CRH²⁵³. En el embarazo la CRH es producida, además de por el hipotálamo, por el trofoblasto, las membranas amnióticas y las células deciduales²⁵⁴.

- La CRH promueve la síntesis de la ACTH por parte de la hipófisis fetal la cual a su vez estimula la producción de dihidroepiandrosteronasulfato y cortisol en la glándula suprarrenal.
- El cortisol aumenta la liberación de CRH a nivel de la decidua, el trofoblasto y las membranas amnióticas, la cual ejerce un feedback positivo sobre el eje HHS y da lugar a la producción de prostaglandinas a nivel uterino (F2alfa y E2)²⁵⁵. Las prostaglandinas contribuyen a este feedback positivo aumentando de nuevo la CRH, ACTH y el cortisol, a la vez que activan las MMP, unas enzimas proteolíticas que conducen a la aparición de contracciones y/o RPM. También existe evidencia de que la CRH puede aumentar directamente la activación uterina²⁵⁶.
- Además, la ACTH hipofisaria también estimula la producción de sulfato de dehidroepiandrosterona adrenal, la cual es convertida a 16-hidroxidehidroepiandrosterona-sulfato en el hígado fetal. A nivel placentario esta hormona es convertida en estrona, estradiol y estriol que en presencia del receptor estrogénico alfa activan la actividad uterina mediante el aumento en los receptores de oxitocina, producción de prostaglandinas y enzimas responsables de la contracción muscular^{257,258}.

La activación del eje HHS suele iniciarse en torno a la mitad de la gestación alcanzando su máximo desarrollo al término (37 semanas). Cuando madura y se activa demasiado temprano tiene lugar el PP²⁵⁹.

2.- Inflamación:

La inflamación se trata de un proceso cuyo objetivo final es proteger al huésped de un organismo externo agresor, cuando se presenta controlada es beneficiosa, sin embargo cuando se desregula puede resultar dañina²⁶⁰. La inflamación causada por infecciones (desde la infección urogenital hasta infecciones sistémicas localizadas en otras áreas) supone aproximadamente el

40% de los nacimientos prematuros. Diversos estudios sugieren que desórdenes en la inmunidad innata o adquirida, más que la mera presencia de organismos infectantes, son la principal causa de que la inflamación desemboque en un PP.

El proceso comienza con la unión de las bacterias a los receptores tipo Toll de la decidua, amnion y cérvix uterino dando lugar a la producción de neutrófilos activados, macrófagos y diversos mediadores proinflamatorios (como IL-1, 6, y 8; TNF-alfa, factor estimulante de colonias de granulocitos [G-CSF], factor estimulante de colonias-tipo 2 [CSF-2] y MMP). Los mediadores iniciales clave de esta respuesta son la IL-1beta y el TNF, los cuales estimulan la producción de prostaglandinas mediante la expresión de la ciclooxigenasa-2 en el amnion y decidua; la expresión de MMP en amnion, decidua y cérvix e inhiben la enzima que metaboliza las prostaglandinas en el corion²⁶¹⁻²⁶⁴. La corioamnionitis también está vinculada a un aumento de la producción de IL-1beta, IL-6, IL-8 y TNF-alfa. La IL-1beta actúa aumentando la producción de IL-6 e IL-8, los cuales a su vez aumentan la producción de prostaglandinas y MMP, así como activan la producción de G-CSF que se encarga de reclutar neutrófilos²⁶⁵. El TNF-alfa por su parte tiene un papel fundamental en la apoptosis de las células epiteliales del amnion que conducen a RPM.

Aunque la mera presencia bacteriana no produce siempre un resultado adverso algunas bacterias producen proteasas, colagenasas y elastasas capaces de degradar las membranas fetales, así como fosfolipasa A2 capaz de aumentar la producción de prostaglandinas^{266,267}.

3.- Hemorragia decidual o desprendimiento placentario:

El desprendimiento placentario (producido por un daño a nivel de las arterias espirales uterinas) se puede manifestar en forma de sangrado vaginal o de hematoma retroplacentario y se asocia con un alto riesgo de RPM y APP^{268,269}. Existen situaciones que incrementan el riesgo de hemorragia decidual como son el tabaquismo y consumo de cocaína por parte de la madre,

hipertensión crónica y preeclampsia, traumatismo materno, retraso del crecimiento intrauterino y coagulopatías hereditarias. La principal causante del PP o RPM en este caso es la trombina, la cual está presente en la formación de coágulos y es capaz de estimular la producción de MMP²⁷⁰ y contracciones uterinas mediante un efecto indirecto sobre el miometrio²⁷¹.

4.- Distensión uterina:

La gestación múltiple, el polihidramnios y otras causas de distensión uterina inducen la formación de uniones gap, la regulación positiva de los receptores de oxitocina y la producción de citoquinas y prostaglandinas inflamatorias que son eventos críticos que preceden a la aparición de contracciones uterinas y dilatación cervical²⁷². La distensión del miometrio también aumenta la expresión de genes con funciones importantes en la colagenólisis y la inflamación²⁷³.

5.- Insuficiencia cervical:

La insuficiencia cervical debido a factores intrínsecos del cuello uterino es un fenómeno poco frecuente. Es más probable que el acortamiento cervical progresivo ocurra antes de que se manifiesten los síntomas de PP.

I.7.- Citoquinas

I.7.1.- Citoquinas e inflamación

La respuesta inmune materna debe ser modulada para permitir mantener una gestación viable, comprometiendo los tejidos alogénicos, sin rechazo. Complicaciones infecciosas y una desregularización de la respuesta inmune han sido asociadas a patología reproductiva, así como a un incremento en el riesgo de aborto y PP²⁷⁴.

1.7.1.1.- Definición y propiedades

Las citoquinas (o citocinas) constituyen un grupo de proteínas de bajo peso molecular (por lo general menos de 30 kDa) que actúan mediando interacciones complejas entre células linfoides, inflamatorias y hematopoyéticas²⁷⁵. Poseen una vida media muy corta y actúan a muy bajas concentraciones mediante su unión de alta afinidad a sus receptores celulares²⁷⁶.

En el pasado hubo mucha controversia en cuanto a su denominación. Las primeras citoquinas en ser descubiertas se denominaron IL, ya que se encargaban de ejercer como señal entre leucocitos; posteriormente se descubrieron otras que eran secretadas únicamente por monocitos y/o macrófagos y se llamaron monoquinas. Con el paso del tiempo se fue conociendo que muchos de estos mediadores celulares eran producidos por otros tipos celulares por lo que se acuñó el término global de citoquinas y/o citocinas para todas ellas. Las quimioquinas (o quimiocinas) se consideran un subgrupo dentro de las citoquinas que se caracterizan por ser de pequeño tamaño (entre unos 8-10 kDa) y ejercer un papel más selectivo en la quimiotaxis de fagocitos.

Las funciones de las citoquinas se pueden agrupar en tres:

- Diferenciación y maduración de las células del sistema inmune.
- Comunicación entre células del sistema inmune.
- Funciones efectoras directas (menos frecuentes).

Las citoquinas desarrollan una función de control del sistema inmune de varias maneras, las cuales se pueden agrupar en las siguientes:

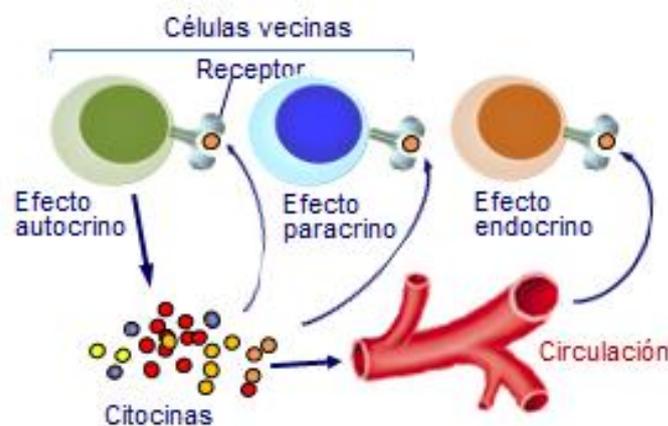
- Regulando (activando o inhibiendo) la activación, proliferación y diferenciación de varios tipos celulares.
- Regulando la secreción de anticuerpos y otras citoquinas.

La unión de las citoquinas a sus receptores de membrana, por los cuales presentan una alta afinidad, provoca la activación de una cascada de transducción intracelular que modifica el patrón de expresión génica, dando lugar a la producción de una respuesta biológica²⁷⁵.

Las citoquinas ejercen un efecto (figura 8):

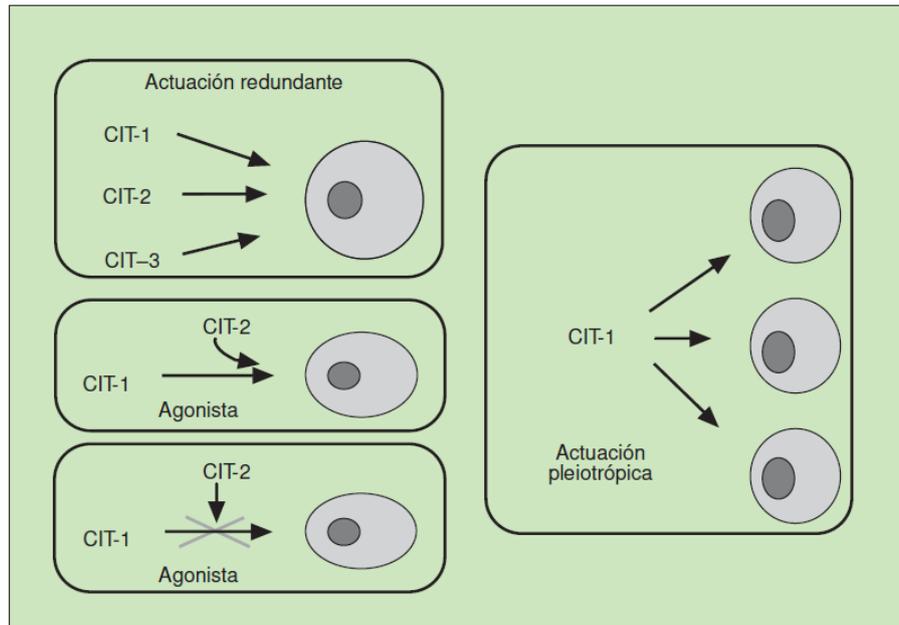
- Autocrino: cuando se unen a receptores presentes en la propia célula que las produce.
- Paracrino: cuando actúan sobre células que se encuentran en su vecindad.
- Endocrino: sólo a veces actúan a distancia, al igual que las hormonas.

Figura 8. Efectos de las citoquinas²⁷⁶.



estas sustancias poseen importantes características funcionales (figura 9).

- Pleiotropismo: una misma citoquina puede ejercer diferentes efectos al actuar sobre distintos tipos de células.
- Redundancia: distintas citoquinas pueden ejercer la misma función en un mismo tipo celular. Por tanto, cuando falta una determinada citoquina otras pueden ejercer su función.
- Sinergismo: dos o más citoquinas producen un efecto que se potencia mutuamente.
- Antagonismo: inhibición o bloqueo mutuo de sus efectos²⁷⁵.

Figura 9. Características de la actuación de las citoquinas²⁷⁷.

1.7.1.2.- Medición

La forma más común de medir las citoquinas es en su forma soluble, aunque también se pueden medir en tejido. Los 2 tipos de ensayos más utilizados para medir las citoquinas en diferentes fluidos biológicos son (tabla 7):

- Ensayos biológicos o bioensayos: es la prueba más sensible para una citoquina en particular. Consiste en examinar el efecto de una muestra en una línea celular. Se puede medir la proliferación, producción de anticuerpos o cambios en el fenotipo después de que una célula haya sido expuesta a una citoquina. Tienen el inconveniente de ser poco específicos y su utilidad es limitada en el estudio de muestras biológicas complejas que pueden contener muchas entidades biológicamente activas de función similar.
- Ensayos inmunológicos o inmunoensayos: emplean anticuerpos para detectar y capturar una citoquina específica. Se suele emplear el ensayo mediante ELISA ("enzyme-linked immunosorbent assay"). En este sistema, se añade una muestra a un pocillo de microtitulación que ha sido recubierto con un anticuerpo. El anticuerpo se une a la

citoquina, y posteriormente se añade un segundo anticuerpo anticitoquina que está vinculado a un indicador. La cantidad del segundo anticuerpo que se une a la citoquina "capturada" es proporcional a la concentración de la citoquina en la muestra original. La cantidad absoluta de citoquina se puede calcular utilizando una curva estándar derivada mediante la adición de cantidades conocidas de citoquina recombinante. Este método se ha avanzado considerablemente uniendo anticuerpos de captura a perlas que son detectables por clasificadores de células fluorescentes activadas y por lo tanto susceptibles a la medición de múltiples citoquinas dentro de las muestras pequeñas. Esta modificación se denomina "análisis multiplex". Algunos anticuerpos de reactividad cruzada pueden dar lugar a falsos positivos, así como enfermedades autoinmunes.

Es importante tener en cuenta que algunos artefactos pueden influir en la detección de las citoquinas:

- Las citoquinas pueden ser degradadas por proteasas o ser absorbidas por receptores de células activadas.
- Receptores solubles que incapacitan la unión de las citoquinas a sus receptores de membranas.

Es por estos problemas que muchos investigadores están comenzando a analizar la expresión de ARN mensajero que puede ser más fiable, pero también es más difícil ya que las proteínas y la producción de ARN mensajero no siempre se correlacionan. Es por ello que habitualmente se requieren múltiples ensayos para detectar y cuantificar una citoquina. Cada vez se emplean más enfoques basados en proteómica y en algunos laboratorios se está empezando a emplear la transferencia Western, aunque esta técnica aún no es cuantitativa.

Tabla 7. Ensayos de citoquinas²⁷⁸.

BIOENSAYO	INMUNOENSAYO	ENSAYOS ARN MENSAJERO
Sensitivo	Menos sensitivo	Procedimientos complejos
Menos específico	Muy específico	No siempre correlacionado con el nivel de proteínas
Interferencias	Interferencias	

1.7.1.3.- Clasificación

Las citoquinas pueden clasificarse según su estructura, propiedades o función.

- Estructura:

La mayoría de las citoquinas pertenecen a la familia de las hematopoyetinas, y tienen estructuras terciarias parecidas: cuatro hélices alfa con escasos dominios en lámina beta²⁷⁵.

Las citoquinas se pueden clasificar estructuralmente en varias familias:

- Citoquinas tipo alfa:
 - Superfamilia de 4 hélices agrupadas de cadena larga: G-CSF, factor estimulador de colonias de monocitos y macrófagos (MM-CSF), IL-6, IL-3, IL-7.
 - Superfamilia de 4 hélices agrupadas de cadena corta: IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-13, interferón-alfa (IFN-alfa), factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), factor estimulador de colonias de macrófagos (M-CSF).
 - Dímeros de 4 hélices agrupadas: IFN-beta, IFN-gamma, IL-10.
- Citoquinas de tipo beta:
 - Triples hojas beta: IL-1alfa, IL-1beta, TNF-alfa, factor de crecimiento transformante alfa (TGF-alfa).

- Con dominios de dimerización ricos en cisteína: factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), TGF-beta
- Citoquinas de tipo alfa + beta:
 - Proteína 1beta inflamatoria de macrófago (MIP-1beta).
- Propiedades:

Se trata de la clasificación más importante y agrupa a las citoquinas en 5 familias (tabla 8):

- TGF: con capacidad de influir en la diferenciación de células hematopoyéticas.
- IL: son las de mayor peso en el sistema inmune. Actúan como señales de comunicación entre diferentes tipos de leucocitos.
- CSF: tienen la capacidad de inducir la diferenciación de células inmaduras.
- TNF: fueron denominadas así por su acción necrótica sobre tumores cuando fueron descubiertas.
- IFN: originariamente interferían en la replicación de los virus.
- Función^{276,279}:
 - Hematopoyesis: IL-3, 5, 7, 9, 11, GM-CSF, G-CSF y M-CSF
 - Respuesta inmune innata: IL-1(alfa y beta), 6, 10, 12, 15, 18, 19, 20, 22, 23, TNF-alfa e IFN-(alfa y beta)
 - Respuesta inmune adaptativa: IL-2, 4, 5, 10, 13, 16, TNF, TGF-beta
 - Proinflamatorias: IL-1, IL-6, IL-17, TNF-alfa y beta, IFN-gamma
 - Inmunosupresoras: IL-4, IL-10, IL-13, TGF

Tabla 8. Tipos de citoquinas y su nomenclatura²⁷⁶.

CITOQUINAS	NOMENCLATURA
Factores de crecimiento (TGF)	Factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), PDGF, factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) ácido y básico, factor de crecimiento nervioso (NGF), factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), factor neurotrófico ciliar (CNTF), TGF-alfa, TGF-beta, oncostatina M (OSM) y factor de crecimiento hepatocitario (HGF)
Interleuquinas (IL)	IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22 e IL-23
Factores estimuladores de colonias (CSF)	GM-CSF, G-CSF, M-CSF, factor de células madre (SCF), eritropoyetina (EPO) y factor inhibidor de leucemias (LIF)
Factores de necrosis tumoral (TNF)	TNF-alfa y TNF-beta
Interferones (IFN)	IFN-alfa, IFN-beta e IFN-gamma

1.7.1.4.- Principales tipos de respuestas mediatizadas por la acción de las citoquinas

Las principales células productoras de citoquinas son los macrófagos, en el sistema inmune natural, y los linfocitos T (LT) colaboradores o T helper (TH), en el sistema inmune específico. Estas células van a producir una serie de citoquinas esenciales en el desarrollo de la respuesta inmune una vez que entran en contacto con las células presentadoras de antígenos.

Generalmente las citoquinas actúan como mensajeras intercelulares produciendo:

1. Activación de los mecanismos de inmunidad natural:

- Activación de los macrófagos y otros fagocitos.

- Activación de las células “Natural Killer” (NK).
 - Activación de los eosinófilos.
 - Inducción de la síntesis de proteínas de fase aguda en el hígado
2. Activación y proliferación de células o linfocitos B (LB), hasta su diferenciación a células plasmáticas secretoras de anticuerpos.
 3. Intervención en la respuesta celular específica.
 4. Intervención en la reacción de inflamación, tanto aguda como crónica.
 5. Control de los procesos hematopoyéticos de la médula ósea.
 6. Reparación tisular.

A pesar de que las citoquinas ejercen un papel inespecífico frente al antígeno son capaces de desempeñar funciones específicas, esto se debe gracias a:

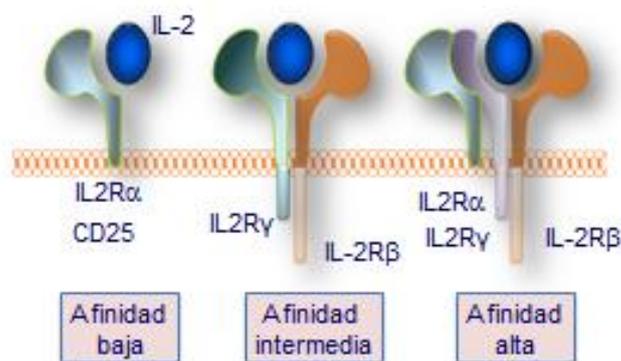
- 1.- Regulación muy fina de los receptores de cada citoquina: los receptores sólo se van a expresar en determinados tipos celulares para que una citoquina ejerza su papel.
- 2.- Contacto estrecho célula a célula: cada citoquina sólo va a ser producida en unas cantidades determinadas adecuadas para ejercer su función en el escaso espacio que queda entre dos células^{275,280}.

1.7.1.5.- Receptores de citoquinas

La activación celular requiere de la unión de las citoquinas a sus receptores de membrana. Una vez que esto ocurre, se inicia una cascada de transducción intracelular que conlleva, además de a un aumento en el número de receptores de membrana, a la fosforilación de proteínas intracelulares que activan la transcripción de genes cuyas proteínas van a desempeñar un determinado efecto biológico. Hay diversos tipos de receptores de membrana para citoquinas, pero se pueden agrupar en seis familias:

- Familia de receptores de citoquinas de la superfamilia de las inmunoglobulinas (Ig): poseen varios dominios extracelulares de tipo Ig.
- Familia de clase I de receptores de citoquinas (también denominado familia de receptores de hematopoyetinas). A este grupo pertenecen la mayoría de las citoquinas y está formado por dos proteínas transmembrana: la cadena alfa (específica de la citoquina) y la cadena beta (compartida con el resto de citoquinas y capaz de mandar señales al citoplasma celular). Ciertas citoquinas, como la IL-2, tienen receptores con una tercera cadena (gamma) que también participa en la transducción intracelular (figura 10).
- Familia de clase II de receptores de citoquinas (también denominado familia de receptores de IFN).
- Familia de receptores de TNF: sus miembros se caracterizan por un dominio extracelular rico en cisteínas.
- Familia de receptores de quimiocinas: son proteínas integrales de membrana, con 7 hélices alfa inmersas en la bicapa lipídica.
- Familia de receptores de TGF^{275,276,280}.

Figura 10. Tipos de afinidad entre IL-2 y sus receptores²⁷⁶.



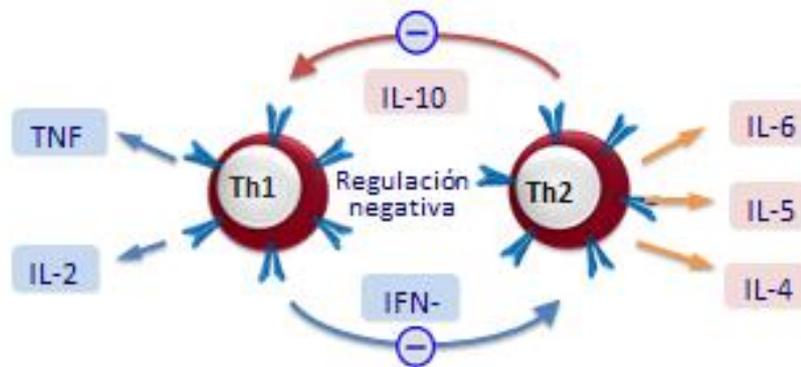
1.7.1.6.- Mecanismos de regulación de citoquinas

Cada subpoblación de linfocitos (TH1, TH2 y TH17) secreta un grupo de citoquinas con efectos biológicos diferentes y que determina el curso de la respuesta inmune.

- Los linfocitos TH1: producen IL-2, IFN-gamma y TNF-beta. Estas citoquinas ejercen funciones dentro de la inmunidad celular: activación de linfocitos TH e hipersensibilidad de tipo retardado que están destinadas a luchar contra parásitos intracelulares.
- Los linfocitos TH2: producen IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13. Participan en la activación de los LB como respuesta a bacterias extracelulares y helmintos, además de participar en reacciones alérgicas (la IL-4 aumenta la producción de IgE y la IL-5 de los eosinófilos)²⁷⁵.
- Los linfocitos TH17: producen hasta 6 isoformas de IL-17 (de la A a la F), siendo la más conocida la IL-17A y la IL-17F. Además también producen otras citoquinas como el GM-CSF²⁸¹.

Es por esto que el resultado de una buena respuesta inmune depende de manera importante de los niveles relativos de células TH1 y TH2: en una respuesta a patógenos intracelulares existe un aumento de citoquinas de TH1, mientras que en respuestas alérgicas y ante helmintos es superior el nivel de las de TH2. Además existe una regulación cruzada entre TH1 y TH2 (figura 11):

- El IFN-gamma secretado por las TH1 inhibe la proliferación de las TH2.
- La IL-10 secretada por las TH2 inhibe la secreción de IL-2 e IFN-gamma por parte de las TH1.

Figura 11. Regulación negativa entre TH1 Y TH2²⁷⁶.

Los macrófagos y otras células presentadoras de antígeno también producen citoquinas, como la IL-12, 15, 18 y 23, que regulan a su vez funciones inmunes efectoras. La IL-12 da lugar a un aumento de las células NK y TH1 las cuales, a su vez, aumentan la producción de IFN-gamma, el cual vuelve a ayudar a la activación de los macrófagos. De esta manera se cierra el círculo de retroregulación positiva entre macrófagos y TH1. Los TH2, por otro lado, gracias a las citoquinas como la IL-4 e IL-10 inhiben la secreción de las citoquinas proinflamatorias y óxido nítrico por parte de los macrófagos^{275,278}.

- Mecanismos regulatorios adicionales: antagonismos fisiológicos

La actividad biológica de las citoquinas sufre una regulación fisiológica por dos tipos de antagonistas: los que bloquean su receptor al unirse al mismo y los que se unen a la citoquina impidiendo que ésta se una a su receptor. Éstos últimos son versiones solubles de los receptores (se denominan anteponiendo una "s" al nombre del receptor) y forman un complejo citoquina-receptor que impide su unión al receptor de membrana y, por tanto, la citoquina no ejerce su función^{275,276}.

1.7.1.7.- Funciones de las principales citoquinas

- IL-1

Se produce por los monocitos y macrófagos y tiene efectos proinflamatorios dado que induce la liberación de histamina por los mastocitos. La IL-1alfa actúa principalmente a nivel intracelular y no se encuentra en la circulación general salvo casos de enfermedad grave, mientras que la IL-1beta es la forma predominante en el espacio extracelular.

Es la citoquina más importante de los procesos inflamatorios, infecciones, daño tisular y enfermedades malignas. Desencadena una respuesta de fase aguda que se caracteriza por fiebre (se trata de un pirógeno endógeno) inducida través de la liberación de prostaglandinas, aumento de la permeabilidad vascular (causando hemorragias y trombosis), de la síntesis de proteínas de fase aguda por parte de los hepatocitos así como aumento de la IL-6 (citoquina proinflamatoria). Activa el eje HHS causando la liberación de glucocorticoides. Puede tener significado patológico dado que conduce a inflamación crónica o shock séptico^{276,277}.

- IL-2

Se sintetiza en los linfocitos TH y citotóxicos (TC) activados. Su principal función consiste en aumentar la proliferación de los linfocitos TH y TC, lo que conduce a una expansión de la respuesta inmune. También actúa como factor de crecimiento y diferenciación de las células NK (dando lugar a un aumento de TNF-alfa, IFN-gamma y GM-CSF), LB y puede activar a macrófagos y neutrófilos²⁸². También estimula la producción de IL-3, IL-4, IL-5 y GM-CSF en los LT e incrementa la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II. Actúa como inmunomodulador sobre el sistema nervioso central, favoreciendo el crecimiento de las células gliales. Además presenta un papel esencial en el desarrollo de respuestas inflamatorias crónicas, tanto humorales como celulares.

- IL-3

Es secretada por LT activados y mastocitos. Actúa sobre el crecimiento hematopoyético de todas las series sanguíneas mediante la proliferación de los progenitores multipotenciales en los primeros estadios de su desarrollo. También tiene efectos sobre los mastocitos de mucosas, células intestinales y dérmicas. Es un importante mediador de las respuestas inflamatorias induciendo la expresión de antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I y de las moléculas de adhesión de macrófagos, así como potenciando a las células NK. Promueve la fagocitosis y la quimiotaxis sobre los eosinófilos²⁷⁶.

- IL-4

Los responsables de su producción son los linfocitos TH2, mastocitos, basófilos y células del estroma de la médula ósea. Promueve la diferenciación de LT vírgenes hacia células de tipo TH2, inhibiendo la generación de células TH1. En consecuencia promueve el desarrollo de la respuesta inmune humoral facilitando el crecimiento y diferenciación de LB y produciendo el cambio isotípico hacia IgE por lo que esta citoquina se ha relacionado con el desarrollo de procesos alérgicos. Además induce la proliferación de los mastocitos y células hematopoyéticas pluripotenciales.

- IL-5

Se produce por los linfocitos TH2 activados y mastocitos. Su principal función es activar la proliferación de las células precursoras de los eosinófilos, siendo la responsable de la eosinofilia de las infecciones parasitarias. También actúa sinérgicamente con otras citoquinas estimulando el crecimiento y diferenciación de los LB (promoviendo la diferenciación hacia TH2), y favoreciendo la secreción de Igs como la IgA e IgE.

- IL-6

Se sintetiza en los monocitos y macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, LT y células del estroma de la médula ósea. Comparte acciones biológicas con la IL-1 pero, a diferencia de ella, no causa trombosis intravascular ni daño tisular. Posee un efecto proinflamatorio promoviendo la síntesis de proteínas de fase aguda, sobre todo de fibrinógeno. Posee una importante acción sobre los LB para los que actúa como factor de crecimiento. Se encarga también de regular la hematopoyesis tratándose de un factor de crecimiento para mielomas y plasmocitomas^{276,277}.

- IL-7

Se produce en las células estromales de la médula ósea. Tiene capacidad para favorecer la diferenciación de los linfocitos pre-B y LT. Es muy buen candidato para la inmunoterapia del cáncer al aumentar la producción de linfocitos TC y células NK (acción antitumoral)^{276,277}.

- IL-8

Se considera una quimiocina por su pequeño tamaño. Presenta un gran número de funciones proinflamatorias: degranulación de neutrófilos, induce expresión de moléculas de adhesión y favorece así la adherencia de los neutrófilos a las células endoteliales. Posee efecto co-mitógeno para los queratinocitos y actúa como factor autocrino en ciertos melanomas²⁷⁷.

- IL-9

Se sintetiza en los LT activados. Estimula la proliferación de precursores eritroides y de LT. Actúa sinérgicamente con la EPO en la médula ósea. Tiene acción sinérgica con la IL-4 potenciando la producción de IgG y E²⁷⁶.

- IL-10

Es producida principalmente por los TH2 y es la citoquina inmunosupresora por excelencia. Es un potente inhibidor de la actividad de los macrófagos, suprimiendo la producción de prostaglandina E2 y citoquinas proinflamatorias (IL-1, 2, 6, 8, 12, IFN-gamma TNF-alfa). Favorece la proliferación de LB y secreción de Igs, de ahí su importancia en la respuesta inmune humoral. Tiene un papel fundamental en la angiogénesis.

- IL-11

Es sintetizada por los fibroblastos del estroma de la médula ósea y células mesenquimales. Actúa como factor de crecimiento sobre poblaciones hematopoyéticas. También favorece la síntesis de reactantes de fase aguda y promueve la diferenciación neuronal. Además, participa en la respuesta inmune humoral al estimular la secreción de Igs por los LB en respuestas T-independiente²⁷⁹.

- IL-12

Se produce esencialmente por los monocitos y macrófagos aunque también en las células dendríticas y LB. Promueve el crecimiento y diferenciación de las células NK y LT. Mediante la síntesis de IFN-gamma induce la activación de los macrófagos y es capaz de inhibir la producción de IL-10 por parte de los linfocitos TH2. Es capaz de suprimir la producción de IgE en sangre periférica²⁷⁶.

- IL-13

Se sintetiza en los linfocitos TH2. Se trata de un potente regulador de las respuestas inmune e inflamatoria. Inhibe la expresión de citoquinas proinflamatorias, al igual que la IL-4 y 10 a la vez que aumenta la producción de IL-1RA. Favorece la proliferación de LB maduros y la síntesis de IgE e IgG^{276,277,279}.

- IL-14.

Es sintetizado por las células tumorales. Induce la proliferación de LB activados pero no en reposo, actuando así sobre una subpoblación de LB de memoria²⁷⁷.

- IL-15

Se sintetiza en una amplia variedad de células entre las que se incluyen células epiteliales, monocitos, músculo esquelético, hígado, pulmón y placenta. Esta citoquina presenta una gran similitud funcional con la IL-2, estimulando los LT y las células NK^{276,279}.

- IL-16

Los linfocitos TC la producen y se secreta en respuesta a la estimulación con serotonina o histamina. Tiene función movilizadora de linfocitos²⁷⁶.

- IL-17

Se sintetiza por los linfocitos TH y estimula la secreción de IL6, 8 y G-CSF por parte de células endoteliales, epiteliales y fibroblastos²⁷⁷.

- IL-18

Esta citoquina está relacionada funcionalmente con la IL-12, ya que posee la misma capacidad de inducción de IFN-gamma en LT y células NK. Sin embargo, a diferencia de la IL-12, la IL-18 es producida por células adrenales y de Kupffer del hígado.

- IL-19, 20, 21 y 22

Al igual que la IL-10 son inmunosupresoras de citoquinas proinflamatorias. Estimulan LB e inducen síntesis de Igs. La IL-21, además, aumenta la actividad de linfocitos TC y células NK²⁷⁶.

- IL-23

Se produce en los macrófagos y células dendríticas. Promueve la diferenciación de LT principalmente en TH17²⁷⁸.

- Interferones

Los interferones constituyen un grupo de proteínas caracterizadas por una potente acción antiviral y antineoplásica, así como reguladora del sistema inmunitario. Existen dos tipos:

- Tipo I: formado por los IFN-alfa y beta.

El IFN-alfa se produce principalmente por macrófagos y LB mientras que el IFN-beta (que comparte un 30% de homología con el IFN-alfa) es producido por fibroblastos y células epiteliales. Ambos interferones actúan sobre el mismo receptor y aunque su capacidad antiproliferativa constituye su papel principal, lo que le confiere a la misma vez una actividad antitumoral, también se pueden considerar citoquinas inmunosupresoras debido a su efecto regulador en la producción de citoquinas.

- Tipo II: IFN-gamma

Se produce por los LT activados y células NK y su papel es fundamentalmente inmunomodulador. Sólo comparte un 10% de homología con el grupo I. Su función es inhibir la proliferación de linfocitos TH2 (facilitando la diferenciación de LT a TH1), inducir la expresión de antígenos leucocitarios humanos (HLA I y II) y aumentar la actividad de las células NK y linfocitos TC.

- Factores de necrosis tumoral

- El TNF-alfa es producido por monocitos, macrófagos, LT y LB, células NK, fibroblastos y mastocitos. Ejerce un efecto antitumoral por un doble mecanismo, inhibiendo la

angiogénesis y provocando por tanto la necrosis hemorrágica del tumor y aumentando la respuesta inmunitaria antitumoral, acción sinérgica con el IFN-alfa. Está implicado, junto con la IL-1, en el desarrollo de fiebre, caquexia y sueño asociado a enfermedades crónicas; además, estimula la producción de IL-8 por las células del endotelio vascular lo que contribuye a la extravasación de linfocitos, neutrófilos y monocitos, así como a la producción de proteínas de fase aguda del hígado dando lugar al shock séptico característico de procesos infecciosos.

- El TNF-beta, también denominado linfotaxina, es producido exclusivamente por LT activados y comparte el receptor del TNF-alfa. Su acción es principalmente citotóxica sobre tumores, al igual que su homólogo^{277,279}.

- Factores de crecimiento

Su denominación no resulta del todo correcta ya que no solo promueven el crecimiento celular sino que participan en la supervivencia celular, inician la mitogénesis, estimulan la migración celular y producen cambios en los fenotipos que influyen en la invasión celular y la apoptosis.

Se pueden agrupar en varias familias:

- Factor de crecimiento derivado de plaquetas: PDGF
- Factores de crecimiento transformantes: TGF-alfa y TGF-beta
- Factor de crecimiento de los fibroblastos: FGF
- Factor de crecimiento de la epidermis: EGF
- Factores de crecimiento similares a la insulina: IGF 1 y 2.

De todos ellos, el más conocido es el TGF-beta. Éste es producido por LT, plaquetas y otros tipos celulares. Su principal función es inmunomoduladora y consiste en inhibir la proliferación de los LT, así como suprimir a los LT activados; también disminuye la producción de citoquinas, disminuyendo además el número de receptores para la IL-1. Por otro lado, incrementa la

proliferación de fibroblastos, osteoblastos y células musculares lisas e incrementa la síntesis de proteínas de la matriz extracelular, lo que favorece la curación de heridas²⁷⁸⁻²⁸⁰.

- Factores estimuladores de colonias

Se tratan de proteínas secretadas por LT, fibroblastos y células endoteliales que promueven la diferenciación de células pluripotenciales y progenitoras mieloides. Los descritos a continuación son los más conocidos:

- El factor estimulador de colonias de granulocitos: G-CSF

El G-CSF actúa sobre células progenitoras mieloides (especialmente sobre los granulocitos) sin influir mucho sobre plaquetas o macrófagos. El GM-CSF y G-CSF acortan los días de fiebre y el periodo de neutropenia gracias a que aceleran la recuperación de la cifra de neutrófilos.

- El factor estimulador de colonias de macrófagos: M-CSF

Estimula la formación de colonias de macrófagos.

- El factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos: GM-CSF

El GM-CSF se encarga de controlar la hematopoyesis además de estimular la producción de la serie eritroide y megacariocítica.

- EPO

La EPO se trata de una glicoproteína que constituye un potente estimulador de la producción de eritrocitos aunque también actúa sobre los megacariocitos y las células endoteliales.

- Trombopoyetina

Constituye la principal citoquina estimuladora de la megacariocitopoyesis^{277,280}.

- Quimiocinas

El término de quimiocina hace referencia a un grupo de citoquinas de bajo peso molecular (8-11 kD) con función quimiotáctica, es decir, que activan y atraen hacia el sitio de la inflamación a varios tipos celulares leucocitarios: eosinófilos, LT, LB, monocitos y macrófagos, células dendríticas y neutrófilos. Son secretadas por gran variedad de células del sistema inmune y su producción está mediada fundamentalmente por la IL-1, el TNF y el IFN-gamma. No inducen la formación de otras citoquinas, no generando reactantes de fase aguda ni fiebre. Además es conocido que desempeñan funciones importantes en la proliferación y apoptosis de determinados tipos celulares, la hematopoyesis y la angiogénesis.

Se trata de polipéptidos con un dominio común denominado “tipo quimiocina” que se caracteriza por presentar cuatro cisteínas unidas entre sí por puentes disulfuro. Existen cuatro subfamilias que se distinguen entre sí según el número y la situación de la cisteína (la C hace referencia al residuo de cisteína y la X al aminoácido)^{283,284}.

- Quimiocinas alfa ó CXC

Presentan gran variedad de efectos biológicos: quimiotaxis de diferentes células, activación y proliferación celular; regulación de la angiogénesis (positiva o negativa), modulación de la hematopoyesis (positiva o negativa), inducen la liberación de histamina y la síntesis de colágeno por los fibroblastos²⁸⁵.

La más conocida es la IL-8, denominada también proteína activadora de neutrófilos-1. Se trata de la principal citoquina producida por los neutrófilos, por lo que se piensa que este efecto autocrino les permite su perpetuación²⁸³.

➤ Quimiocinas beta ó CC

Comprende la citoquina quimioatrayente de monocitos del 1 al 4 (MCP-1 a 4) y la proteína regulada tras la activación de LT normales expresados y secretados (RANTES). Éstas son especialmente quimioatrayentes de monocitos y LT, aunque también actúan sobre eosinófilos, basófilos, LB, células NK, progenitores mieloides y megacariocitos²⁸⁶.

La más representativa de su grupo es la MCP-1. Su función principal es la quimiotaxis de numerosas células del sistema inmune pero no de neutrófilos ni de eosinófilos; además, es potente inductora de la liberación de histamina por los basófilos²⁸³.

➤ Quimiocinas gamma (C) y delta (CX3C)

Está formado por la linfotactina y el motivo C solitario-1. Ejercen su efecto sobre LT y células NK. La única quimiocina CX3C es conocida como fractalquina o neurotactina y su función consiste en estimular la adherencia al endotelio y la quimiotaxis de LT y monocitos^{285,286}.

A continuación se presenta una tabla con el resumen de las principales citoquinas (tabla 9).

Tabla 9. Resumen de las principales citoquinas conocidas y sus funciones (modificado de Aguirre de Avalos y colaboradores)²⁸⁰

Citoquinas	Origen	Principales efectos
INTERLEUQUINAS		
IL- 1 (alfa, beta)	Monocitos y macrófagos	Respuesta inflamatoria aguda: fiebre, sueño, anorexia, inflamación aguda y shock séptico. Activación de IL-6.
IL-2	LT	Respuesta inflamatoria crónica: activa las respuestas celular y humoral. Favorece acción citolítica de células NK.
IL-3	LT, mastocitos, queratinocitos, neuronas.	Diferenciación de precursores hematopoyéticos y mediador de respuesta inflamatoria: células NK y mastocitos.
IL-4	LT y LB, mastocitos y células del estroma de médula ósea	Promueve la respuesta humoral mediante la diferenciación de LT a TH2.
IL-5	LT y mastocitos	Interviene en infecciones parasitarias mediante el aumento de precursores de eosinófilos. Estimula la respuesta humoral mediante la diferenciación de LT a TH2.
IL-6	LT , monocitos, fibroblastos	Interviene regulando la respuesta inmunológica (aumentando la proliferación de LB), en la hematopoyesis y en las reacciones de fase aguda.
IL-7	Médula ósea y timo	Estimula proliferación de LT y LB. Acción antitumoral.
IL-8	Monocitos, células endoteliales, macrófagos alveolares, fibroblastos.	Induce la quimiotaxis y activación de células inflamatorias, sobre todo neutrófilos.
IL-9	LT	Estimula proliferación de precursores eritroides y LT.
IL-10	LT, LB y macrófagos	Inmunosupresor: inhibe actividad de macrófagos, producción de prostaglandinas y citoquinas inflamatorias. Estimula producción de LB.
IL-11	LT, LB, monocitos, fibroblastos	Factor de crecimiento de células hematopoyéticas.
IL-12	Células hematopoyéticas, macrófagos y LB.	Inicia la repuesta inflamatoria mediante el crecimiento de células NK y LT; así como mediante la activación de macrófagos por el IFN-gamma.

IL-13	LT	Inhibe citoquinas proinflamatorias, estimula proliferación de LB.
IL-14	Células tumorales	Proliferación de LB.
IL-15	Células epiteliales, monocitos, células musculares, hígado, pulmón y placenta	Proliferación y diferenciación de LT y NK.
IL-16	LT	Quimiotaxis de células linfocitarias.
IL-17	LT activados	Estimula producción de IL-6, IL-8, G-CSF.
IL-18	Células adrenales y de Kupffer del hígado	Inmunomoduladora, similar a IL-12.
IL-19, 20, 21 y 22	LT	Inmunosupresoras, estimulan LB.
IL-23	Macrófagos y células dendríticas	Promueve la diferenciación de LT a TH17.

INTERFERONES

IFN-alfa	Macrófagos y LB	Efectos antiviral, antitumoral e inmunomodulador.
IFN-beta	Fibroblastos y células epiteliales	Efectos antiviral, antitumoral e inmunomodulador.
IFN-gamma	LT activados y células NK	Incrementa la expresión de antígenos de clase I y II HLA y la actividad de células NK.

FACTORES DE NECROSIS TUMORAL

TNF-alfa	Monocitos, macrófagos, LT y LB, células NK, fibroblastos y mastocitos	Efecto antitumoral al igual que IFN-alfa y proinflamatorio similar a IL-1
TNF-beta	LT activados	Antitumoral y proinflamatorio al igual que TNF-alfa

FACTORES ESTIMULADORES DE COLONIAS

GM-CSF	LT, monocitos, células endoteliales y fibroblastos	Modulador hematopoyético
G-CSF	Monocitos, células endoteliales y epiteliales	Estimula la proliferación y diferenciación de la línea de granulocitos neutrófilos
M-CSF	Monocitos, fibroblastos y células endoteliales	Estimulación de diferenciación de precursores hemopoyéticos hacia macrófagos.
Eritropoyetina	Células intersticiales peritubulares renales, hígado y macrófagos de médula ósea	Producción eritroide.

Trombopoyetina	Hígado, riñón, músculo liso y bazo	Estimula la proliferación y la diferenciación de las células progenitoras megacariocíticas.
PDGF	Plaquetas	Activa la activación plaquetaria, principalmente actúa regulando mecanismos de adherencia.

FACTORES DE CRECIMIENTO

TGF-alfa	Macrófagos, neuronas y queratinocitos	Crecimiento y diferenciación de epitelios. Es un miembro de la familia EGF.
TGF-beta	LT activados	Inmunosupresora. Inhibe síntesis de citoquinas y la citotoxicidad natural.
FGF	Tejido conectivo	Proliferación endotelial y angiogénesis.
EGF	Células de lámina basal epidermal	Crecimiento y diferenciación de epitelios.
IGF (1,2)	Hígado y células del sincitiotrofoblasto respectivamente	Promueve proliferación y diferenciación de múltiples tejidos contribuyendo al desarrollo corporal postnatal y embrionario.

QUIMIOCINAS

Familia alfa	Monocitos, macrófagos, queratinocitos, hepatocitos, neutrófilos, eosinófilos, plaquetas, LT, LB y NK	Quimiotaxis celular, regulación de la angiogénesis y modulación de la hematopoyesis
Familia beta	Monocitos, macrófagos, queratinocitos, hepatocitos, neutrófilos, eosinófilos, plaquetas, LT, LB y NK	Quimiotaxis celular
Familia gamma	Linfocitos T CD8+, timocitos, mastocitos y células NK.	Activación y quimiotaxis de LT y células NK
Familia delta	Endotelio	Adherencia al endotelio y la quimiotaxis de LT y monocitos

I.7.2.- Citoquinas y parto prematuro

Desde los años 90 las citoquinas han sido objeto de estudio como marcadores proteínicos del PP. Durante las últimas dos décadas la evidencia ha mostrado que los mecanismos inmunológicos juegan un papel clave en el éxito o fracaso del embarazo²⁸⁷. El embarazo supone una situación de alteración del estado inmunológico normal de la mujer, cuyo frente se establece en la barrera feto-materna (placenta). El éxito de una gestación se consigue siempre que la madre desarrolle una buena tolerancia inmunológica, mientras que una mala adaptación inmunológica desencadenaría una serie de respuestas inflamatorias que daría lugar a la producción de citoquinas^{288,289}.

Las citoquinas estimulan la aparición de contracciones uterinas mediante la producción de prostaglandinas, produciendo modificaciones cervicales²⁹⁰ y, en algunos casos, RPM mediante la producción de MMP²⁹¹. Las MMP afectan a la actividad de diversas citoquinas, lo que señala a una doble función de las MMP en la activación y desactivación del sistema inflamatorio. La MMP-9 interviene en la degradación de la membrana basal y otros componentes de la matriz extracelular; además, el nivel de MMP-9 aumenta en el humano en el momento del parto. La concentración de MMP-9 sérica materna experimenta una elevación 24 horas antes del inicio del trabajo de parto. Diversos estudios realizados recientemente apuntan a que existe una relación entre el aumento de los niveles de MMP-9 fetal y la RPM, y establecen una diferencia entre fetos con RPM y fetos de PP con membranas intactas²⁹².

Las citocinas proinflamatorias, como la IL-1alfa y beta, IL-6, IL-8 y TNF-alfa, protegen al huésped de microorganismos invasores²⁹³. Sin embargo, aparte de los efectos de protección, esta respuesta también puede ser perjudicial para el huésped. Por este motivo, la cascada inmune proinflamatoria está rigurosamente regulada. La conclusión del proceso inflamatorio y la curación se producen gracias a la actividad de citoquinas antiinflamatorias como el IL-1RA, IL-4,

IL-10 e IL-13. Precisamente un desequilibrio entre las respuestas pro y antiinflamatoria interviene en la patogénesis de los nacimientos prematuros relacionados con una infección²¹⁹.

1.7.2.1.- Citoquinas estudiadas en el parto pretérmino

Se han estudiado los niveles de citoquinas en varios fluidos biológicos: suero y plasma sanguíneo, fluido cérvico-vaginal, líquido amniótico y sangre de cordón umbilical. El papel de las citoquinas, que siempre estuvo ligado a la infección, ha cambiado en los últimos tiempos demostrándose su asociación con el PP aún en ausencia de infección. Las citoquinas proinflamatorias IL-1, IL-6, IL-8 y TNF-alfa han sido implicadas en el inicio de trabajo de PP, así como en su progresión^{119,294}. El papel que desempeñan las mismas en el parto es explicado a continuación:

- La IL-1 incrementa el tráfico de leucocitos al endometrio favoreciendo la vasodilatación, lo cual hace que aumente el número de otras citoquinas secretadas por estas células. La IL-1beta contribuye al acortamiento cervical y la aparición de contracciones rítmicas: estimula la producción de prostaglandina E2 en las células endoteliales (un potente dilatador cervical) e incrementa la expresión de MMP y progesterona²⁹⁵. Además la IL-1beta también aumenta los niveles de calcio en plasma el cual aumenta la contractilidad miometrial²⁹⁶.
- La IL-6 activa neutrófilos, macrófagos, células NK²⁹⁷ y además actúa como factor de crecimiento y estimulador de los receptores de oxitocina en el miometrio²⁹⁸, lo cual promueve la llegada de células inflamatorias al endometrio y aumenta la respuesta a la oxitocina. Además la IL-6 también activa el eje HHS el cual da lugar al inicio del parto e incrementa la producción de prostaglandinas y MMP, las cuales son responsables de la progresión del mismo.

- La IL-8 tiene un papel fundamentalmente quimiotáctico induciendo cambios cervicales. Atrae neutrófilos y linfocitos hacia el cérvix promoviendo la proliferación de células endoteliales y fibroblastos, así como la síntesis de IL-1, IL-6 y MMP, los cuales son agentes causantes de RPM y modificación cervical^{299,300}.
- El TNF-alfa se encarga de la activación de macrófagos, linfocitos y otras células de la serie blanca; además aumenta la producción de MMP, citoquinas proinflamatorias y prostaglandinas^{263,301}, promoviendo modificaciones cervicales y la aparición de contracciones uterinas.

A continuación pasamos a describir las citoquinas estudiadas hasta el momento en relación con el PP en los distintos compartimentos biológicos:

- Citoquinas en fluidos cérvico-vaginales:

El aumento de citoquinas antiinflamatorias cervicales crea un terreno favorable para la posterior invasión microbiana del útero. Se ha encontrado un aumento de las citoquinas proinflamatorias IL-1beta, IL-6, IL-8, G-CSF en el cérvix de las gestantes en el momento del parto^{297,300,302}, así como un aumento de las IL-6 y 8 en los de mujeres con PP³⁰²⁻³⁰⁵.

Un estudio de 2010 muestra unos niveles más altos de IL-1beta y alfa, IL-10, IL-13 en los cérvix de las mujeres que están de parto (PP o a término) y una disminución de las IL-12 y 18³⁰⁶, sin embargo estos hallazgos no han vuelto a ser confirmados por otros estudios.

La citoquina que más se ha relacionado con el PP a nivel de los fluidos cérvico-vaginales es la IL-6. Esta citoquina presenta una utilidad similar en el diagnóstico de PP a la fFN, con un valor predictivo negativo del 97% (la fFN del 95-99%) y un valor predictivo positivo del 16% (la fFN del 6-40%)³⁰⁷. Un reciente estudio ha llegado a la conclusión de que la realización conjunta de ambos test predice mejor el PP (con una sensibilidad del 97.2%), que cada uno de forma independiente (la IL-6 tiene una sensibilidad del 69.4% mientras que la fFN del 75%)³⁰⁸. La presencia de IL-6 por

encima de los 250 ug/l en los fluidos cérvico-vaginales tanto en las mujeres con o sin síntomas de PP predice con eficacia el parto en los próximos 14 días³⁰⁹ en las mujeres africanas y americanas, sin embargo, esta predicción es mejor con fFN en las mujeres caucásicas³¹⁰. Esto nos indica como el factor genético juega un papel importante en la génesis del PP.

Se ha encontrado una relación inversa entre la IL-6 y la longitud cervical, siendo ambas factores de riesgo independiente para PP. La IL-6 ayuda a predecir el PP cuando la longitud cervical es ≤ 30 mm, mientras que no mejora la predicción cuando la longitud cervical es ≤ 15 mm³¹¹. Además la IL-6 en fluidos cérvico-vaginales también ha sido descubierta como un marcador de infección/inflamación intraamniótica³⁰⁴.

La IL-8 es una citoquina proinflamatoria que ha sido relacionada desde la década de los noventa con la corioamnionitis e inflamación de los tejidos cervicales³¹². Esta citoquina juega un importante papel en la quimiotaxis de los neutrófilos, en la degranulación y activación de las colagenasas y elastasas que producen el acortamiento cervical, la degradación de las membranas amnióticas y la aparición de contracciones uterinas mediante la secreción de prostaglandinas²⁹⁹. Rizzo y colaboradores fueron los primeros en encontrar una asociación entre el acortamiento cervical, IL-8 y corioamnionitis³¹³ y posteriormente Sakai y su grupo demostraron que la presencia de IL-8 en el flujo vaginal se asociaba a una disminución de los lactobacilos vaginales y aumento de la flora patógena inusual vaginal³¹⁴. Recientemente el estudio COLIBRI ha encontrado una asociación entre el PP y la presencia de las citoquinas IL-1beta, IL-8 e IL-10 en fluido cérvico-vaginal; así como una asociación, aunque no significativa, entre la combinación de un cérvix menor a 25 mm y la IL-8 con el PP. De esta manera el estudio pretende considerar la posibilidad de hablar de un cérvix corto de tipo inflamatorio cuyo tratamiento diferiría del acortado sin inflamación en el tratamiento (tratamiento antiinflamatorio frente a cerclaje o pesario)³¹⁵. Este hallazgo ha sido apoyado por otro estudio posterior del año 2016, que aunque confirma la especificidad que tiene la longitud cervical con

la IL-8 para predecir el PP (92.8%); sin embargo, la sensibilidad continúa siendo muy baja como para incorporarlo a la práctica clínica (sensibilidad del 56.4%)³⁰⁵.

- Citoquinas en líquido amniótico:

El estudio del líquido amniótico ha sido siempre el objetivo principal para conocer el origen del PP. Sin embargo, su análisis siempre ha estado orientado a conocer el mecanismo causante del PP más que a conseguir un método de cribado o predictor del mismo teniendo en cuenta que para su obtención es necesario la realización de un método invasivo como es la amniocentesis, la cual se relaciona con una probabilidad de aborto o pérdida gestacional de 1 cada 100 casos.

La infección intrauterina y la inflamación son causas bien documentadas de PP con membranas íntegras. La coriamnionitis, y por tanto el PP, se ha relacionado con niveles elevados de citoquinas, como son la IL-1beta, IL-6, IL-8 y TNF-alfa^{296,316-318}. Los cultivos microbianos son positivos hasta en un 20-60% de las mujeres con PP por debajo de las 28 semanas de gestación y se reducen hasta un 10-25% entre las 28 y las 32 semanas³¹⁹. Incluso con un cultivo amniótico negativo, una mujer con APP a menudo tiene una inflamación intraamniótica, la cual se evidencia a través del aumento en los niveles de marcadores inflamatorios como son las citoquinas, especialmente la IL-6 y la IL-8^{318,320,321}. Por tanto, sea o no el cultivo del líquido amniótico positivo, la inflamación intraamniótica se relaciona con una menor latencia hasta el parto y tasas más elevadas de morbilidad y mortalidad perinatal, tanto en gestaciones únicas como en gemelares³²²⁻³²⁴.

La IL-6 es el marcador que hasta el día de hoy presenta la mejor sensibilidad (80-100%) para predecir inflamación/infección en pacientes con PP. Sin embargo, su uso es aún limitado considerando que presenta una tasa de falsos positivos del 18-25% y un valor predictivo positivo del 36-44%^{319,325}.

Un estudio reciente demuestra la relación entre la IL-1beta y la corioamnionitis en monos Rhesus mediante la inyección intramniótica de esta citoquina. Se produce una alteración en el balance entre LT reguladores y las células proinflamatorias promoviendo la producción de otras citoquinas como la IL-17 e IL-6, provocando una cascada inflamatoria que conduce al PP³²⁶. La IL-1beta está producida por los monocitos y macrófagos y se la relaciona con el fallo de implantación y abortos del primer trimestre²⁷⁴.

Una revisión del año 2010 ha encontrado que en mujeres asintomáticas que posteriormente presentan un PP sólo la IL-6 y la PCR se encuentran elevadas en el líquido amniótico. La elevación de la IL-6 supone un riesgo de un 14% mientras que la PCR del 32%. El resto de citoquinas no se relacionan con el PP en mujeres asintomáticas¹¹⁹.

Varios estudios se han centrado también en el papel protector de la IL-10 en el líquido amniótico. Se ha documentado que el PP se asocia con niveles inalterados de IL-10 en el líquido amniótico durante el segundo trimestre, donde la concentración de IL-10 debe estar aumentada. Puchner y colaboradores por el contrario, no encontraron diferencias significativas en los niveles de IL-10 entre gestantes asintomáticas en el 2º trimestre que posteriormente presentaron PP de las que no³²⁷. Gotsch y colaboradores descubrieron que la IL-10 se expresa en altas concentraciones en el líquido amniótico de las gestantes a término y que ésta también se encuentra en cantidad elevada durante el PP (ya sea a término o pretérmino)³²⁸.

- Citoquinas en sangre de cordón umbilical:

Aunque varios estudios han demostrado que los niveles de IL-10 son menores en el PP que en el parto a término, algunas investigaciones informan de que los niveles de IL-10 son altos en el PP asociado a infección. Varios estudios muestran cómo los niveles de IL-10 en sangre de cordón umbilical aumentan significativamente en madres infectadas frente a madres no infectadas^{329,330}. Basándose en estos resultados, se puede concluir que la regulación positiva de

IL-10 en el PP con signos de infección es una respuesta normal del sistema inmune para regular la inflamación dependiente de la infección. En consecuencia, Ferguson y colaboradores informaron de que la IL-10 está significativamente asociada con el PP.

Arababadi y su grupo de colaboradores encontraron niveles significativamente superiores de IL-12 en sangre de cordón umbilical de neonatos pretérmino vs a término.

- Citoquinas en suero materno:

Una vez conocido el papel de las citoquinas como predictores del PP en los fluidos cérvico-vaginales, líquido amniótico y sangre de cordón umbilical; muchos autores comenzaron a pensar en una forma más sencilla de poder extraer las muestras que nos permitieran estudiar las citoquinas. Es por ello que comenzó a estudiarse el papel de las citoquinas en suero materno.

Las IL estudiadas han sido la IL-1beta, 2, 2R, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 13, 15, 17, 18, TNF-alfa, GMC-SF, IFN-gamma, TGF-beta. Los estudios publicados hasta el momento presentan resultados muy dispares y, en algunos casos, contradictorios.

Al igual que en el fluido cérvico-vaginal y líquido amniótico, la IL-6 ha sido la más estudiada. Esta citoquina presenta funciones pro y antiinflamatorias. Es producida por los LT y macrófagos para estimular la respuesta inmune durante la infección o daño de los tejidos, lo que conduce a una inflamación. Sin embargo también tiene un efecto antiinflamatorio mediante la inhibición del TNF-alfa y la IL-1beta y el aumento de la IL-10 (citoquina antiinflamatoria). Es ya conocido que la IL-6 activa la producción de linfocitos a nivel uterino, aumentando la expresión de receptores de oxitocina e incrementando la producción de prostaglandinas mediante la activación del eje HHS³³¹.

Son varios los estudios que han encontrado un aumento de las citoquinas 1beta, 6 y 8 en el suero de las mujeres en trabajo de PP y sin signos de infección en comparación con controles

sanos (gestantes sin APP)^{141,296,332}. Según estos estudios la presencia de estas citoquinas en suero materno en el momento del parto sería independiente de la presencia de infección.

Otros autores, sin embargo, no han encontrado incrementos significativos en el suero de mujeres con APP en los niveles de IL-1beta, IL-6 ni IL-8^{135,295,333-335}. Estos autores se escudan en la teoría de que los incrementos significativos en los niveles de IL-1beta e IL-6 ocurren de manera secundaria a una infección, y no antes de comenzar la misma, tal y como apoyan otros estudios^{293,336-339}. Parece encontrarse un sinergismo entre la IL-1beta y la IL-6 que se explicaría mediante la estimulación de la producción de IL-6 por parte de la IL-1beta.

Cuando estas mismas citoquinas son estudiadas en el suero de gestantes asintomáticas (sin APP en el 2º trimestre) que posteriormente presentan PP la mayor parte de los estudios no demuestran incrementos en los niveles de IL-1beta, IL-6 ni IL-8 en suero^{119,235,340}. Sin embargo, otro estudio sí que demostró un aumento significativo de la IL-1beta y la IL-6 entre aquellas gestantes que presentaron confirmación histológica de corioamnionitis tras el PP³⁴¹. Ruiz y colaboradores encontraron niveles incrementados de IL-1RA en el suero de gestantes asintomáticas que presentaron PP, comprobándose además un efecto sinérgico con la IL-6. La IL-1RA es considerada como un marcador de la actividad biológica de la IL-1beta³⁴². En contrapartida, cuando se estudia el suero de gestantes asintomáticas con antecedentes de PP anterior sí que podemos encontrar un aumento significativo de la IL-1beta, IL-6 e IL-8 entre aquellas que finalmente dieron a luz por debajo de las 35 semanas³⁴³. Sorokin y colaboradores han demostrado la asociación entre el PP y la IL-6, concluyendo que los niveles elevados tanto de IL-6 como de PCR suponen un incremento de riesgo de PP < 32 semanas entre aquellas gestantes que han tenido un episodio de APP en la misma gestación⁹¹.

Se han relacionado los niveles séricos de IL-6 e IL-8 con la respuesta al tratamiento tocolítico. Un estudio llevado a cabo por Shahshahan y su grupo mostró que la concentración de estas

citoquinas entre aquellas pacientes con APP era mayor si fracasaba el tratamiento tocolítico y tenían un PP que si llegaban a término¹²⁷. Este hecho también ha sido apoyado por otros estudios que han mostrado como las gestantes que tienen PP presentan niveles superiores en suero de IL-6 con respecto a las que tienen un parto a término³⁴⁴.

La IL-6 se encuentra normalmente elevada en paciente con preeclampsia, abortos de repetición y diabetes gestacional³⁴⁵.

La mayoría de los estudios no relacionan el TNF-alfa en suero materno con el PP^{339,340,346,347}, mientras que alguno sí que ha encontrado dicha relación sólo en presencia de infección²⁹³. Un estudio realizado entre las 12 y 15 semanas en gestantes asintomáticas con antecedente de PP demostró que aquellas que volvían a presentar PP tenían unos niveles más elevados de TNF-alfa³⁴³; sin embargo, esto no ha sido demostrado por otros³⁴⁰, ni siquiera en presencia de infección intraamniótica³⁴⁸. La mayor parte de los estudios parecen confirmar que aunque el TNF-alfa se encuentra en mayor cantidad en suero que en líquido amniótico³⁴⁹, en presencia de infección los niveles de TNF-alfa aumentan considerablemente en líquido amniótico³³⁹. Además es importante tener en cuenta que existe una serie de patología obstétrica que también se relaciona con niveles elevados de TNF-alfa como es la preeclampsia³³⁶ y los abortos de repetición³⁴⁵.

Álvarez-de-la-Rosa y colaboradores han hallado que, comparado con gestantes sanas, aquellas que presentan APP o PP de causa idiopática presentan concentraciones significativamente mayores de IL-2R, y además tanto la IL-2R como la IL-6 sirven para predecir el fallo del tratamiento tocolítico pues niveles aumentados de las mismas se relacionan con PP <34 semanas en las primeras 48 tras iniciar el mismo²⁹⁵.

Varios estudios han demostrado un incremento en los niveles de GM-CSF en el suero de gestantes asintomáticas entre las 24-28 semanas que tuvieron un PP de menos de 32 semanas^{350,351}. Otros, sin embargo, no relacionan los niveles de GM-CSF en suero con el PP³⁴⁷.

El IFN-gamma también ha sido una citoquina muy estudiada en el PP. La mayoría de los estudios no confirman su relación con el PP, ni en gestantes asintomáticas que posteriormente desarrollan un PP (comparadas con las que tienen un parto a término) ni así como en gestantes con APP (comparadas con controles)^{135,339}. Tan sólo dos estudios han podido demostrar su relación con el PP, uno en presencia de infección³⁴¹ y otro sin confirmarse la misma³⁴⁷. El IFN-gamma se encuentre aumentado, al igual que la IL-6 y el TNF-alfa, en gestantes con preeclampsia y abortos de repetición³⁴⁵.

En ratones la IL-18 se asocia con una mayor frecuencia de pérdidas fetales³⁵² y la IL-12 parece actuar de forma sinérgica con la IL-18. Sin embargo, en humanos existen resultados contradictorios acerca de si niveles aumentados o bajos de IL-18 y 12 durante la gestación podrían ser un marcador de riesgo de PP³⁵³. Ekelund y su grupo de colaboradores hallaron que las gestantes que tenían PP <34 semanas presentaban niveles inferiores de IL-18 que las que tenían parto a término, y que el riesgo de PP aumentaba si se encontraban simultáneamente niveles descendidos de IL-18 junto con niveles aumentados de IL-12³⁵³. Tan sólo en el caso de infección confirmada por histología tras PP y en el caso de antecedentes de PP previo la IL-12 se ha encontrado elevada en suero materno^{341,343}.

El papel de la IL-10 en el PP continúa aún siendo muy controvertido³⁵⁴. Se trata de una citoquina cuyo nivel en suero va aumentando a medida que avanza la gestación y se ha relacionado en el embarazo con una disminución de la respuesta materna a los antígenos fetales²⁷⁴. Algunos estudios apoyan un incremento de IL-10 en las gestantes con APP²³⁷ mientras que otros no³⁴⁴. Pereira y colaboradores encontraron que en gestantes asintomáticas, con posterior PP, los

niveles de IL-10 eran inferiores³⁵⁵. Esto podría explicarse mediante el papel antiinflamatorio de la IL-10, de tal manera que en presencia de infección la IL-10 aumentaría (en el caso de las gestantes con APP e infección) ya que se trata de una citoquina inhibitoria de la IL-1beta, 6, TNF-alfa y prostaglandina E2; sin embargo, que se encuentre disminuida en aquellas gestantes asintomáticas que desarrollarán un PP significa que no existe suficiente IL-10 que pueda regular a la baja el proceso inflamatorio del PP.

No se ha demostrado relación de la IL-2 con el PP^{295,347}, sólo en casos de antecedentes de PP y en presencia de infección intrauterina confirmada por histología^{343,341}. De la misma manera no se ha podido demostrar la relación de las IL-4, 5, 13, 15, 17 y TGF-beta con el PP¹³⁵, salvo de las IL-5 y TGF-beta en gestantes asintomáticas con antecedentes de PP³⁴³.

En conclusión, en la literatura sigue existiendo una gran controversia acerca del papel de las citoquinas en sangre materna debido a la disparidad de estudios. En resumen, con la bibliografía actual, podemos concluir que:

- Algunos estudios muestran una relación significativa entre niveles elevados de IL-1beta, 6 y 8 en suero materno y trabajo de PP comparado con gestantes sin trabajo de PP, apoyando así la teoría de que las citoquinas en sangre materna pueden elevarse aún en ausencia de infección.
- Otros estudios, por el contrario, sólo encuentran relación entre los niveles IL-6 y PP cuando existen signos de infección (RPM, corioamnionitis).
- Otros estudios no apoyan la idea de una relación entre citoquinas en suero materno y PP.
- Parece ser que no existe ningún indicador inflamatorio sistémico (citoquina) en mujeres asintomáticas que nos permita predecir el PP salvo cuando se trata de gestantes con

antecedentes de PP previo, donde podemos encontrarnos muchas citoquinas elevadas:

IL-1beta, 2,5,6,8,12,18,TNF-alfa,TGF-beta.

- Hay un incremento significativo de IL-2R en las mujeres con trabajo de PP comparada con las gestantes sin trabajo de parto.
- No hay estudios que demuestren que la IL-2, 4, 5, 13, 15, 17 y TGF-beta se relacione con el PP.
- Los resultados publicados hasta el momento de las IL-12 y 18 en relación con el PP en humanos son contradictorios.

II. Hipótesis

Dado que:

- 1) El PP se trata de una patología con una alta incidencia y prevalencia a nivel mundial que implica una elevada morbimortalidad fetal.
- 2) Aún no existe una forma certera de diagnosticar la verdadera APP.
- 3) El tratamiento indiscriminado basándose sólo en la dinámica uterina regular y un cérvix corto, conlleva un sobretreatmento de muchas gestantes que finalmente tendrán un parto a término, con los efectos secundarios que implica.
- 4) La obtención de suero materno se trata de un método no invasivo y necesario previo a la aplicación del tratamiento de la APP.
- 5) Se conocen varios factores de riesgo y diversos marcadores que nos pueden ayudar a seleccionar a las pacientes con mayor riesgo de PP.

La presente investigación tiene como objetivo fundamental evaluar la relación entre las citoquinas en suero materno y el PP para así poder establecer un modelo multivariante para la predicción del PP en gestantes sintomáticas a partir de las 24 semanas; asociando factores y marcadores de riesgo, con el fin de seleccionar un grupo de gestantes sintomáticas con alto riesgo de desarrollar PP y que puedan beneficiarse en mayor medida del tratamiento disponible.

III. Objetivos

- Principal:

Establecer la relación entre PP y la presencia de citoquinas en suero materno con el fin de desarrollar un modelo multivariante que integre factores de riesgo, cervicometría, PCR y citoquinas en sangre materna; que nos permita conocer con exactitud diagnóstica qué grupo de gestantes con contracciones uterinas van a desarrollar un PP.

- Secundarios:

- 1) Estudio y comparación de los niveles de los distintos tipos de citoquinas en suero materno en los 3 grupos de estudio: gestantes pretérmino con dinámica uterina, gestantes pretérmino de la misma edad gestacional sin dinámica uterina y gestantes a término con pródromos de parto (PDP).
- 2) Reevaluar si los parámetros utilizados en la actualidad para el diagnóstico de APP (la presencia de contracciones uterinas regulares y cérvix corto) se consideran adecuados para seleccionar a aquellas gestantes que desarrollarán un PP y por tanto son susceptibles de tratamiento.
- 3) Establecer la relación entre APP, así como el PP, y parámetros analíticos como la PCR, leucocitosis y presencia de infección vaginal; así como la correlación entre ellas y con el panel de citoquinas.
- 4) Asociación entre el panel de citoquinas y los resultados obstétricos.
- 5) Asociación entre los niveles de citoquinas, así como de cervicometría y PCR con la respuesta al tratamiento tocolítico.

IV. Material y métodos

IV.1. Diseño

Estudio caso control con recogida prospectiva de los datos donde se compara un grupo de casos formado por gestantes con APP con dos grupos control: 1) gestantes de la misma edad gestacional sin APP y 2) gestantes a término con PDP; para así valorar las variaciones en los niveles séricos de citoquinas e intentar establecer un modelo multivariante predictivo de PP.

El presente estudio se ha llevado a cabo en el Servicio de Obstetricia y Ginecología del Complejo Hospitalario Torrecárdenas de Almería en colaboración con el servicio de laboratorio de análisis clínicos del propio hospital y la Unidad de Bioanálisis situada en el Centro de Investigación Biomédica de la Universidad de Granada.

La captación de la población a estudio se realizó durante un periodo de 36 meses (mayo 2012-mayo 2015). El seguimiento posterior de las pacientes integradas en el estudio fue de 4 meses, para así valorar los resultados en recién nacidos vivos a término (37-42 semanas de gestación), con un tiempo total de 40 meses de estudio.

Dicho proyecto ha recibido la aprobación del Comité de Ética del hospital (anexo 1) y se le ha otorgado una ayuda oficial para su realización mediante la concesión de una beca (PI-07-0538) de la Fundación Pública Andaluza “Progreso y Salud para la Financiación de la Investigación Biomédica y en Ciencias de la salud” de la Junta de Andalucía en el año 2011 (anexo 2).

IV.2. Población de estudio

El Complejo Hospitalario Torrecárdenas de Almería es el único hospital terciario de la provincia y atiende a una amplia población de Almería de gran diversidad étnica y socioeconómica en la que existe una elevada proporción de población inmigrante, procedente en su mayoría de Marruecos y Europa del este. Las consultas de la Unidad de Alto Riesgo Obstétrico prestan atención a todas aquellas gestantes derivadas de los Centros de Especialidades, Centros de Salud

e incluso desde otras Áreas de Salud externas a la capital por presentar algún factor de riesgo para la gestación, siguiendo los protocolos de la SEGO.

Fueron seleccionadas para entrar en el estudio todas aquellas gestantes ingresadas en la Unidad de Alto Riesgo Obstétrico del Complejo Hospitalario Torrecárdenas, que acudieron a la consulta de Seguimiento Obstétrico de Embarazo de Bajo Riesgo o al Servicio de Urgencias de dicho hospital y que, reuniendo los criterios de inclusión, fueron adecuadamente informadas y dieron su consentimiento para participar en el estudio. Establecimos 3 grupos de estudio:

- Grupo 1: casos.

Gestantes con APP espontánea que acudieron al Servicio de Urgencias hospitalario y que tras su correcto diagnóstico eran ingresadas en la Unidad de Alto Riesgo Obstétrico.

El diagnóstico de APP se realizó siguiendo las directrices de la SEGO⁶⁵, entendiéndose como tal la presencia de dinámica uterina regular (4 contracciones en 20 minutos u 8 en 1 hora) en gestantes entre 24 y 34+6 semanas de gestación asociada a uno de los siguientes factores:

- Longitud cervical ≤ 25 mm. Esta medida se tomó como medida de referencia de APP de toda gestante por debajo de las 35 semanas independientemente de su edad gestacional siguiendo el protocolo hospitalario vigente al inicio del estudio (protocolo de APP de la SEGO de 2012⁶⁵).
- Índice obstétrico de Bishop ≥ 4 (tabla 8): con al menos un borramiento cervical $\geq 80\%$ o dilatación cervical ≥ 2 cm.

- Grupo 2: controles (primer grupo control).

Gestantes con curso gestacional sin incidencia, sin APP, entendida como tal la descripción previa de los casos, y con edad gestacional entre 24 y 34+6 semanas. Estas pacientes fueron seleccionadas en la Consulta de Seguimiento Obstétrico de Embarazo de Bajo Riesgo.

- Grupo 3: controles (segundo grupo control).

Gestantes a término (≥ 37 semanas de gestación) con PDP y que cumplen las mismas condiciones que el grupo 1 (contracciones uterinas regulares espontáneas e índice de bishop ≥ 4) pero que aún se encuentran en la fase latente del periodo de dilatación (no han alcanzado los 3 cm). Estas pacientes fueron incluidas en el estudio tras llegar y ser valoradas en el Servicio de Urgencias del Complejo Hospitalario Torrecárdenas.

IV.3. Criterios de inclusión y exclusión

Fueron elegibles para entrar en el estudio todas aquellas gestantes que cumplían con los criterios de inclusión que a continuación se especifican.

- Grupo 1:
 - Gestantes con diagnóstico de APP (entre 24 y 34+6 semanas), según el protocolo de la SEGO anteriormente especificado⁶⁵, que ingresaron en la Unidad de Alto Riesgo Obstétrico del Complejo Hospitalario Torrecárdenas durante el periodo de estudio y que firmaron el Consentimiento Informado (anexo 3) para su incorporación en el estudio.
 - Gestaciones únicas datadas según la LCC de la ecografía del primer trimestre²⁸ y con resultado de bajo riesgo para trisomías en el cribado para cromosopatías realizado entre las 11⁺⁰-13⁺⁶ semanas.
 - Bolsa amniótica íntegra y constantes maternas dentro de la normalidad.
 - Embarazos con curso gestacional sin patología significativa y controles prenatales normales (incluyendo ecografía selectiva realizada entre las 19-21⁺⁶ semanas) hasta el desencadenamiento de la APP.
 - Monitorización cardiotocográfica y biometría fetal dentro de la normalidad.

- Grupo 2:
 - Edad gestacional entre las 24-34⁺⁶ semanas sin trabajo de parto que acudieron a la Consulta de Seguimiento de Embarazo de Bajo Riesgo del Complejo Hospitalario Torrecárdenas y que, tras ser debidamente informadas, firmaban el Consentimiento Informado (anexo 3) para participar en el estudio.
 - La misma edad gestacional, en semanas, que el grupo con APP.
 - Gestaciones únicas datadas según la LCC de la ecografía del primer trimestre²⁸ y con resultado de bajo riesgo para trisomías en el cribado para cromosomopatías realizado entre las 11⁺⁰-13⁺⁶ semanas.
 - Bolsa amniótica íntegra y constantes maternas dentro de la normalidad.
 - Embarazos con curso gestacional sin patología significativa y controles prenatales normales (incluyendo ecografía selectiva realizada entre las 19-21⁺⁶ semanas) hasta el desencadenamiento de la APP.
 - Monitorización cardiotocográfica y biometría fetal dentro de la normalidad.

- Grupo 3:
 - Gestantes a término (≥ 37 semanas de gestación) con PDP y que cumplen las mismas condiciones que el grupo 1 (contracciones uterinas regulares espontáneas e índice de bishop ≥ 4) pero que aún se encuentran en la fase latente del periodo de dilatación (no han alcanzado los 3 cm) y que tras ser debidamente informadas, firmaban el Consentimiento Informado (anexo 3) para participar en el estudio.
 - Gestaciones únicas datadas según la LCC de la ecografía del primer trimestre²⁸ y con resultado de bajo riesgo para trisomías en el cribado para cromosomopatías realizado entre las 11⁺⁰-13⁺⁶ semanas.
 - Bolsa amniótica íntegra y constantes maternas dentro de la normalidad.

- Embarazos con curso gestacional sin patología significativa y controles prenatales normales (incluyendo ecografía selectiva realizada entre las 19-21⁺⁶ semanas) hasta el desencadenamiento de la APP.
- Monitorización cardiotocográfica y biometría fetal dentro de la normalidad.

Fueron excluidas del estudio todas aquellas gestantes que no cumplían con los criterios de inclusión comentados en el párrafo anterior y que además presentaban:

- Malformaciones uterinas relacionadas con el PP.
- Cerclajes.
- Situación obstétrica peligrosa (crecimiento intrauterino restringido, preeclampsia grave sin controlar, eclampsia u otra patología materna grave) que pudiera comprometer el estado materno-fetal o pudiera requerir actuación urgente al margen de la APP.
- Amniorrexis o metrorragia.
- Gestaciones múltiples.

IV.4. Variables de estudio

- Variables principales:
 - Edad gestacional en el momento del reclutamiento (en base a la fecha de última menstruación o, en su defecto, por la LCC del primer trimestre si ésta difería ≥ 7 días con respecto a la medida del embrión datada por fecha de última menstruación).
 - Edad gestacional en el momento del parto (semanas de gestación).
 - Cervicometría al ingreso por ecografía transvaginal (mm).
 - Niveles séricos de cada una de las citoquinas estudiadas en sangre materna: IL-1beta, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, GM-CSF, IFN-gamma, TNF-alfa.
 - Niveles séricos de PCR en sangre materna

- Niveles séricos de leucocitos en sangre materna
- Variables relacionadas con factores individuales de la paciente:
 - Edad (años).
 - Paridad (número de hijos previos).
 - Etnia: caucásica, negra, árabe, asiática, sudamericana, india, otras.
 - Estatura (cm).
 - Peso pregestacional (kg).
 - Peso en el momento del reclutamiento (kg).
 - IMC: peso (Kg)/talla (m²).
 - Conización cervical previa: si/no.
 - Cirugía uterina previa: si/no.
 - Tensión arterial en el momento de la determinación (mm Hg).
 - Fórmula obstétrica: n^o embarazos, n^o abortos, n^o partos, n^o hijos nacidos vivos, n^o hijos vivos actualmente (FO: 0000).
 - Parto previo antes de 34 semanas (PP): si/no.
 - Antecedente familiar de primer grado de PP: si/no.
 - Número de abortos previos.
 - Hipertensión arterial crónica: si/no.
 - Preeclampsia en gestación anterior: si/no.
 - Hábito tabáquico: si/no.
 - Consumo de alcohol: si/no.
 - Consumo de drogas: si/no.
 - Tipo de drogas: marihuana, cocaína, heroína, drogas sintéticas, otras.
 - Consumo de ácido fólico antes del embarazo: si/no.
 - Consumo de suplementos de vitaminas durante embarazo: si/no

- Variables relacionadas con la historia obstétrica actual:
 - Resultado del cribado de cromosomopatías en primer trimestre: bajo/alto/intermedio.
 - Realización de amniocentesis y resultado: si/no.
 - Presencia de malformaciones congénitas y tipo: si/no
 - Biometrías en el momento de inclusión en el estudio (cm): DBP, PC, CA, LF.
 - Percentil fetal.
 - Hipertensión gestacional: si/no.
 - Preeclampsia: si/no.
 - Amenaza de aborto del primer trimestre: si/no.
 - Metrorragia de segundo o tercer trimestre y semanas de gestación de sangrado: si/no.
 - Test de Bishop al ingreso.
 - Cervicometría al alta por ecografía transvaginal (mm): tan sólo si no tuvieron PP.
 - Test de Bishop al alta: tan sólo si falsos PDP.
 - Hemograma: anemia/plaquetopenia/leucocitosis
 - Cultivo de orina: normal/anormal.
 - Cultivo endocervical: normal/anormal.
 - Cultivo vaginal: normal/anormal.
 - Tratamiento recibido en caso de cultivo de orina positivo: si/no + tipo de antibiótico.
 - Cultivo para SGB: negativo/positivo.
 - Profilaxis frente a SGB: si/no
- Datos del parto:
 - Fecha parto.
 - Edad gestacional del parto (semanas).

- Peso fetal al nacimiento (g).
- Test de Apgar al nacimiento (tabla 10): al minuto y a los 5 minutos.
- Forma de inicio parto: espontáneo/ inducido /cesárea electiva
- Indicación de finalización de la gestación: embarazo en vías de prolongación/ RPM/CIR/riesgo de pérdida de bienestar fetal/DPPNI/oligoamnios/HTA gestacional/ preeclampsia.
- Forma de terminación de la gestación: eutócico/instrumental (vacuo/fórceps/espátulas)/cesárea urgente/cesárea electiva.
- Muerte neonatal y complicaciones fetales: si/no + tipo de complicaciones

Tabla 10. Test de Apgar³⁵⁶

Signo/Puntuación	0	1	2
Frecuencia cardíaca (latidos/min)	Ausente	< 100 lpm	≥ 100 lpm
Movimientos respiratorios	Ausentes	Irregular ó débil	Llanto o regular
Tono muscular	Flacidez	Flexión moderada de las extremidades	Movimientos activos
Reactividad	Sin respuesta	Muecas	Llanto vigoroso o tos
Coloración de piel y mucosas	Palidez o cianosis generalizada	Cianosis distal	Rosado completamente

IV.5. Reclutamiento y recogida de datos

La recogida de datos se inició de forma prospectiva, tras la aprobación por el Comité de Ética del Complejo Hospitalario Torrecárdenas en mayo de 2012.

El procedimiento para la obtención de los tres grupos de estudio fue el siguiente:

- Grupo 1

Gestantes entre 24 y 34+6 semanas de gestación diagnosticadas de APP que ingresaban en la Unidad de Alto Riesgo Obstétrico del complejo Hospitalario Torrecárdenas y que, tras ser debidamente informadas, deseaban voluntariamente participar en el estudio.

El protocolo diagnóstico aplicado a las participantes para confirmar la APP y descartar criterios de exclusión era el establecido en nuestra unidad ante sospecha de APP:

- Exploración física para descartar otro foco de dolor, fiebre o peritonismo.
- Especuloscopia para descartar amniorrexis o metrorragia.
- En ausencia de metrorragia, se procede al tacto vaginal para valorar la dilatación cervical (Test de Bishop).
- Monitorización de frecuencia cardíaca fetal y dinámica uterina materna para confirmar esta última y descartar signos de pérdida de bienestar fetal.
- Cervicometría materna, realizada según las pautas establecidas por la SEGO⁶⁵.
- Ecografía abdominal para un examen prenatal básico que incluya:
 - Actividad cardíaca y movimientos fetales.
 - Número de fetos.
 - Valoración del índice de líquido amniótico.
 - Ubicación y apariencia placentaria.
 - Edad gestacional/tamaño mediante la realización de biometrías fetales, siguiendo los criterios de la Sociedad Internacional de Ecografía en Obstetricia y Ginecología³⁵⁷ y calculando el peso fetal estimado mediante las curvas de Hadlock³⁵⁸ y Campbell³⁵⁹:
 - Diámetro biparietal:
 - ❖ Corte transverso de la cabeza a nivel del tálamo.

- ❖ Eje de insonación de 90° en relación con el eco central.
- ❖ Apariencia simétrica de ambos hemisferios.
- ❖ Eco central (hoz del cerebro) dividido en el medio por el cavum del septum pelúcido y el tálamo.
- ❖ El cáliper es colocado del borde externo de uno de los parietales al borde interno del otro.
- Circunferencia cefálica:
 - ❖ Igual corte que el utilizado para el diámetro biparietal pero creando una elipse que rodee el borde externo de los huesos del cráneo.
- Circunferencia abdominal:
 - ❖ Corte transversal del abdomen a nivel de la porta y de la vena umbilical.
 - ❖ Estómago visible.
 - ❖ Riñones no visibles.
 - ❖ Se crea una elipse colocando el cáliper en el borde externo de la piel que recubre el abdomen.
- Longitud de la diáfisis del fémur:
 - ❖ Medimos el eje más largo de la diáfisis osificada con un ángulo de insonación entre 45 y 90°.
 - ❖ Medición colocando el cáliper a nivel de ambos extremos de la diáfisis osificada.

Las ecografías se llevaron a cabo por un mismo equipo examinador por vía transabdominal y vaginal con sonda convex abdominal de 3'5-5 MHz y sonda transvaginal de 7-9 MHz. El equipo utilizado en este estudio fue un ecógrafo Toshiba Xario ("Toshiba Medical Systems Europe").

Una vez confirmada la APP, previa a cualquier actuación terapéutica, si la paciente cumplía los criterios de inclusión, y una vez firmado el consentimiento informado, se procedía a la obtención de las muestras biológicas maternas:

- Muestra sanguínea compuesta por:
 - 1 tubo de hemograma (tubo con EDTA K₃) de 4 ml enviado al laboratorio de urgencias.
 - 1 tubo de coagulación (tubo con citrato sódico 1/9) de 4,5 ml enviado al laboratorio de urgencias.
 - 2 tubos de bioquímica (tubo con gel y activador de la coagulación) de 5 ml enviados al laboratorio de urgencias.
- Muestra de orina para urocultivo.
- Cultivo endocervical, vaginal y vagino-rectal (para cribado de SGB).

Una vez instaurado el tratamiento tocolítico, o después del PP (en caso de producirse), se procedía a:

- Encuesta detallada que incluye variables de tipo demográfico y morfométrico que pudieran influir en las conclusiones finales.

Todos los datos obtenidos así como los resultados tras el análisis de las muestras, fueron introducidos en la base de datos de SPSS v. 22.0 para su posterior análisis. Los informes de las exploraciones ecográficas, los ingresos hospitalarios, el parto, el alta de reanimación obstétrica y el alta hospitalaria se realizaron mediante el soporte informático DIRAYA del Servicio Andaluz de Salud. Aquella información relevante que no pudo obtenerse a partir de las bases de datos informatizadas se recuperó siempre que fue posible a través de las historias clínicas o de entrevistas telefónicas con las mujeres incluidas en el estudio.

La administración del tratamiento tocolítico se hizo según el protocolo establecido en nuestra Unidad:

- Edad gestacional entre 24 y 34+6 semanas de gestación.
- Confirmación de una verdadera APP⁶⁵: 4 contracciones en 20 minutos u 8 en 1 hora + cervicometría ≤ 25 mm en toda aquella gestante cuya edad gestacional estuviera entre las citadas en el anterior párrafo.
- Ausencia de patología materna o fetal que desaconsejen prolongar la gestación.
- Ausencia de contraindicaciones para el uso del fármaco tocolítico.

El fármaco tocolítico empleado fue Atosiban (Tractocile©), administrado según se indica en ficha técnica, de la siguiente forma: 1) bolo en 1 minuto de 0,9 ml de solución de 7,5mg/ml (dosis total 6,75 mg de atosiban); 2) infusión de 2 viales de 5 ml (de 7,5 mg/ml) diluidos en 100 ml a pasar en 3 horas: velocidad de infusión de 24 ml/hora = 300 mcg/min (o 18 mg/hora durante 3 horas = 54 mg de atosiban); 3) infusión de 2 viales de 5 ml (de 7,5 mg/ml) diluidos en 100 ml a pasar en 45 horas: velocidad de infusión de 8 ml/hora= 100 mcg/min (ó 6 mg/hora durante 45 horas = 270 mg de atosiban).

El resto de tratamientos y cuidados recibidos por las gestantes diagnosticadas de APP y que participaron en el estudio fueron también los establecidos por nuestra Unidad ante diagnóstico de APP:

- Inducción de maduración pulmonar fetal con 12 mg de betametasona, dos dosis separadas por 24 horas.
- En gestaciones entre 24 y 31+6 semanas de gestación y ante un parto inminente (más de 4 cm de dilatación cervical), se aplicó el protocolo de neuroprotección fetal:
 - Sulfato de magnesio a una dosis inicial de 4g en 30 minutos y posteriormente 1g/h hasta el parto.

- Si el parto no se producía en las siguientes 12 horas se interrumpía la administración de sulfato de magnesio.
- En gestaciones con SGB desconocido y parto inminente se administró profilaxis para SGB según la siguiente pauta:
 - Ampicilina 2gr al inicio y posteriormente 1gr/4h hasta el parto.
- Progesterona: dosis 200 mg/día por vía vaginal al alta hospitalaria hasta la 34 semana de gestación, o hasta el parto si este se produce antes de las 34 semanas.
- Previamente al alta se permite a la paciente deambular por la sala y moverse para su higiene personal durante 24-48 h según el riesgo, la edad gestacional y las condiciones cervicales.
- En caso de urocultivo o cultivos vaginales positivos, se procede a tratamiento antibiótico según antibiograma.
- En caso de alteración analítica, se trata según los protocolos habituales.

Si la APP es controlada con tratamiento tocolítico y, no se reinicia tras finalizar éste, la paciente recibe el alta hospitalaria y es remitida a un control en 2 semanas en la Unidad de Fisiopatología Fetal para reevaluación del riesgo y se le dan indicaciones de volver a urgencias si reaparece la sintomatología.

- Grupo 2

Los controles, emparejados por edad gestacional en el momento de inclusión en el estudio, fueron elegidos del listado de pacientes de la consulta de Seguimiento de Embarazo de Bajo Riesgo del Complejo Hospitalario Torrecárdenas, obtenida a partir de las pacientes que acuden de manera rutinaria a la consulta de control de semana 20 y que, ante la ausencia de cualquier patología materna o fetal que requiera seguimiento más estrecho del embarazo, el siguiente control gestacional, según el protocolo de nuestra Unidad, se realizaría en la semana 32 de

gestación. En dicho listado aparece recogida, entre otras variables obstetro-ginecológicas, la fecha de última regla de la paciente.

Se realizó una selección por grupo de riesgo, es decir, cada vez que un caso era seleccionado, se seleccionaba un control del listado descrito. Elegíamos los controles con fecha de última regla más cercana a la del caso, con una diferencia inferior a 14 días. El control elegido recibía una llamada telefónica en la que se le preguntaba si deseaba participar en el estudio, si éste lo rechazaba, un segundo control era elegido de la misma manera.

Los controles seleccionados acudían al paritorio de la Unidad de Obstetricia y Ginecología del Complejo Hospitalario Torrecárdenas donde, tras firmar el consentimiento informado, se les realizaba una exploración obstétrica detallada por parte del mismo personal facultativo que había llevado a cabo la exploración en el grupo de casos y se procedía a la extracción de las analíticas pertinentes por parte del personal de enfermería.

Las atenciones recibidas por el grupo control fueron:

- Exploración física basada en la toma de constantes vitales básicas: frecuencia cardiaca, tensión arterial y temperatura.
- Especuloscopia: para la toma de muestras cérvico-vaginales y SGB.
- Tacto vaginal para valorar dilatación cervical (Test de Bishop).
- Monitorización de frecuencia cardíaca fetal y dinámica uterina materna para descartar esta última y descartar signos de pérdida de bienestar fetal.
- Cervicometría materna, siguiendo la técnica descrita en el grupo de casos y con el mismo ecógrafo.
- Biometrías fetales, siguiendo la técnica descrita en el grupo de casos y con el mismo ecógrafo.

Se tomaron, al igual que en el grupo de los casos, las siguientes muestras:

- Muestra sanguínea compuesta por:
 - 1 tubo de hemograma (tubo con EDTA K₃) de 4 ml enviado al laboratorio de urgencias.
 - 1 tubo de coagulación (tubo con citrato sódico 1/9) de 4,5 ml enviado al laboratorio de urgencias.
 - 2 tubos de bioquímica (tubo con gel y activador de la coagulación) de 5 ml enviados al laboratorio de urgencias.

- Muestra de orina para urocultivo.

- Cultivo endocervical, vaginal y vagino-rectal (para cribado de SGB).

Los datos extraídos de este grupo fueron exactamente los mismos que para los casos:

- Encuesta detallada que incluía variables de tipo demográfico y morfométrico que pudieran influir en las conclusiones finales.

Si durante la exploración, el control seleccionado era diagnosticado de cualquiera de los criterios de exclusión establecidos (patología uterina relacionada con PP, cerclaje, patología obstétrica grave que comprometiera el estado fetal o materno, amniorrexis o metrorragia activa) o el registro cardiotocográfico y/o las biometrías fetales se encontraban fuera de los límites normales, dicho control era excluido del estudio y se derivaba a la Unidad Hospitalaria correspondiente.

Si los cultivos vagino-cervicales o de orina resultaban positivos se administraba tratamiento según antibiograma. Si existía alteración analítica el control recibía el tratamiento correspondiente.

- Grupo 3

El segundo grupo control, formado por gestantes a término con PDP que cumplían los criterios de inclusión, era reclutado desde el Servicio de Urgencias Hospitalario y una vez ingresadas en la planta de Obstetricia se procedía, previo a la firma del consentimiento informado, a la toma de muestras y obtención de datos necesarios para el estudio.

En el servicio de Urgencias se procedía a:

- Exploración física para descartar otro foco de dolor, fiebre o peritonismo.
- Especuloscopia para descartar amniorraxis o metrorragia.
- En ausencia de metrorragia, se procede al tacto vaginal para valorar dilatación cervical (Test de Bishop).
- Ecografía prenatal básica para estimación de peso fetal, frecuencia cardíaca fetal, valoración de líquido amniótico y de placenta.
- Monitorización de frecuencia cardíaca fetal y dinámica uterina materna para confirmar esta última y descartar signos de pérdida de bienestar fetal.

Una vez ingresadas, y previo consentimiento informado, se procedía a la toma de muestras.

- Muestra sanguínea compuesta por:
 - 1 tubo de hemograma (tubo con EDTA K₃) de 4 ml enviado al laboratorio de urgencias.
 - 1 tubo de coagulación (tubo con citrato sódico 1/9) de 4,5 ml enviado al laboratorio de urgencias.
 - 2 tubos de bioquímica (tubo con gel y activador de la coagulación) de 5 ml enviados al laboratorio de urgencias.
- Muestra de orina para urocultivo.

- Cultivo endocervical, vaginal y vagino-rectal (para cribado de SGB).

Los datos extraídos de este grupo fueron exactamente los mismos que para los casos:

- Encuesta detallada que incluía variables de tipo demográfico y morfométrico que pudieran influir en las conclusiones finales.

IV.6. Análisis de las muestras

La muestra de sangre era extraída de cualquiera de las venas situadas en la fosa cubital del brazo mediante un sistema cerrado al vacío.

Las muestras de sangre (un tubo de hemograma, uno de coagulación y dos de bioquímica) y de orina eran enviadas inmediatamente, tras su extracción, al laboratorio de urgencias junto con su petición correspondiente donde figuraban los códigos pertenecientes al estudio, ya conocido por el personal de laboratorio. Además se realizaba también aviso telefónico a dicho personal para que no hubiera demora en el procesamiento y análisis de dichas muestras.

IV.6.1. Análisis en laboratorio de urgencias

En el laboratorio de urgencias se procesaba el hemograma, la coagulación y la PCR y además se iniciaba el proceso de separación de suero para el posterior análisis de las citoquinas (extraídas del segundo tubo de bioquímica).

- Los niveles séricos de PCR se determinaron mediante una reacción inmunoturbidimétrica con látex de alta sensibilidad potenciada por partículas, con el sistema analizador COBAS C® (“Roche Diagnostics”, Mannheim, Alemania). La PCR se une a las partículas de látex cubiertas por anticuerpos monoclonales anti PCR y el precipitado resultante es determinado mediante turbidimetría, siendo el límite inferior de detección 0.1 mcg/mL.

- La sangre de la cual iban a ser extraídas las citoquinas era recogida en un tubo de bioquímica de 5 ml con activador de la coagulación. Una vez recepcionada en el laboratorio de urgencia la muestra era procesada y congelada a -80°C en un tiempo no superior a 1 hora desde su extracción para poder realizar un estudio proteómico fiable del suero sanguíneo. Es importante que la sangre se coagule de forma previa a la centrifugación (lo cual ocurre espontáneamente en un periodo de unos 15 a 30 minutos a temperatura ambiente). Posteriormente es centrifugada (sin anticoagulante) a 1500 revoluciones por minuto durante 15 minutos a temperatura ambiente. La fracción superior o sobrenadante tras la centrifugación de aspecto amarillento y transparente, corresponde al suero sanguíneo (componente de la sangre resultante tras la coagulación de la sangre y eliminar el coágulo, diferenciándose del plasma sanguíneo en que éste no contiene las proteínas involucradas en la coagulación); éste es aspirado y alícuotado (0.5 ml) en al menos 2 crioviales específicamente dispuestos para ello. Seguidamente eran almacenados en cajas de crioalmacenaje que eran guardadas en un congelador a -80°C dispuesto en el mismo laboratorio. El almacenaje a esta temperatura permite su conservación a largo plazo (durante años). Las muestras de citoquinas iban siendo procesadas y guardadas en el congelador hasta obtener un número considerable de las mismas para poder ser analizadas en el laboratorio correspondiente, sin embargo, aunque el tiempo de almacenamiento previo al análisis fue variable, en todos los casos fue inferior a 2.5 años.

IV.6.2. Análisis microbiológico

El cultivo cervical, vaginal, SGB y urocultivo eran enviados para cultivo al laboratorio de microbiología.

IV.6.3. Análisis de citoquinas

Desde mayo de 2012, las muestras de suero (obtenidas y procesadas en el laboratorio de urgencias) de cada paciente eran congeladas y conservadas (en un congelador a -80°C) para su posterior análisis. Se realizaron un total de 4 envíos entre el año 2014 y 2016 a la Unidad de Bioanálisis situada en el Centro de Investigación Biomédica de la Universidad de Granada. Allí las citoquinas fueron analizadas mediante la tecnología Luminex xMAP (Milliplex MAP 2013, Merck, Darmstadt, Alemania), una de las tecnologías capaz de realizar inmunoensayos en la superficie de perlas magnéticas fluorescentes conocidas como microesferas MagPlex. Se trata de una técnica basada en un grupo de microesferas con un código de colores basado en dos colorantes fluorescentes. A través de concentraciones precisas de estos colorantes, se pueden crear 2 tipos de sets de microesferas: de 500 (microesferas de poliestireno de 5,6 micras) u 80 (microesferas magnéticas 6,45 micras), cada una de las cuales está revestida con un anticuerpo de captura específico. Después de que una citoquina sea capturada por las esferas, se introduce un anticuerpo de detección biotinilado. La mezcla de reacción se incuba con Estreptavidina-PE conjugado, la molécula informadora, para completar la reacción en la superficie de cada microesfera. El kit empleado ofrece tres instrumentos Luminex para adquirir y analizar datos utilizando dos métodos de detección:

- Analizadores Luminex: Luminex 200™ y FLEXMAP 3D®, instrumentos basados en citometría de flujo que integran componentes de detección xMAP®, como el láser, la óptica, fluidos avanzados y procesadores de señal digital de alta velocidad.
- El analizador Luminex (MAGPIX®), un instrumento que integra la captura y detección de componentes clave xMAP® con la velocidad y la eficiencia de perlas magnéticas.

Cada microesfera es identificada de forma individual y el resultado es cuantificado basándose en las señales indicadoras fluorescentes.

Todas las muestras del estudio fueron medidas por duplicado para cada citoquina. En aquellos casos en los que el coeficiente de variación de los duplicados excedió del 15% se reanalizaron las muestras.

IV.7. Análisis estadístico

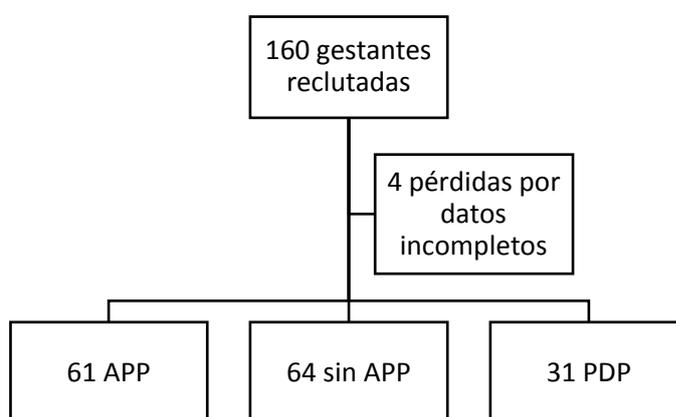
El análisis estadístico se realizó con la versión SPSS 22.0 (IBM, SPSS, Chicago, Illinois, ESTADOS UNIDOS). La prueba de Kolmogorov-Smirnov se utilizó para determinar la normalidad de los datos distribución. Los datos se presentan como medianas/rangos intercuartiles (RIQ) (para datos distribuidos diferente a la normal), media \pm desviaciones estándar (para datos distribuidos normalmente), y frecuencias/porcentajes. La comparación de los datos continuos no paramétricos se realizó de acuerdo con la prueba U de Mann-Whitney (2 muestras independientes), Kruskal-Wallis (varias muestras independientes) o test de rangos de Wilcoxon (2 muestras relacionadas) y para los datos continuos que seguían una normal se empleó la prueba T de Student (2 muestras independientes) o ANOVA (varias muestras independientes). La prueba de Chi² se utilizó para comparar porcentajes, con la corrección de Yates en aquellos casos en que fue requerida. Se aplicó el test exacto de Fisher si fue preciso. Se empleó un modelo de regresión logística para establecer la relación con la APP y el PP y varias variables simultáneamente. Finalmente, se realizó un análisis de regresión lineal múltiple para determinar los factores relacionados con la edad gestacional al nacer (variable dependiente) en tres modelos: el primero utilizando el análisis agrupado de casos con APP y controles sin APP (n= 125), el segundo analizando solamente datos de mujeres complicadas con APP (n= 61) y el tercero con el análisis agrupado de casos y PDP (n= 92). Las variables independientes que alcanzaron una p=0,05 durante el análisis bivariante se utilizaron para construir cada modelo de regresión. Para todos los cálculos un valor de p<0,05 se consideró estadísticamente significativo.

V. Resultados

V.1. Análisis descriptivo

Se reclutó un total de 160 gestantes durante un periodo de 36 meses (mayo 2012-mayo 2015) aunque finalmente sólo 156 se incluyeron en el análisis estadístico. Cuatro gestantes incluidas en el grupo de los casos fueron excluidas por datos incompletos. Las 156 gestantes restantes se distribuían en: 61 gestantes con APP, 64 gestantes sanas sin APP (control 1) y 31 gestantes con PDP (control 2) (figura 12).

Figura 12. Población de estudio.

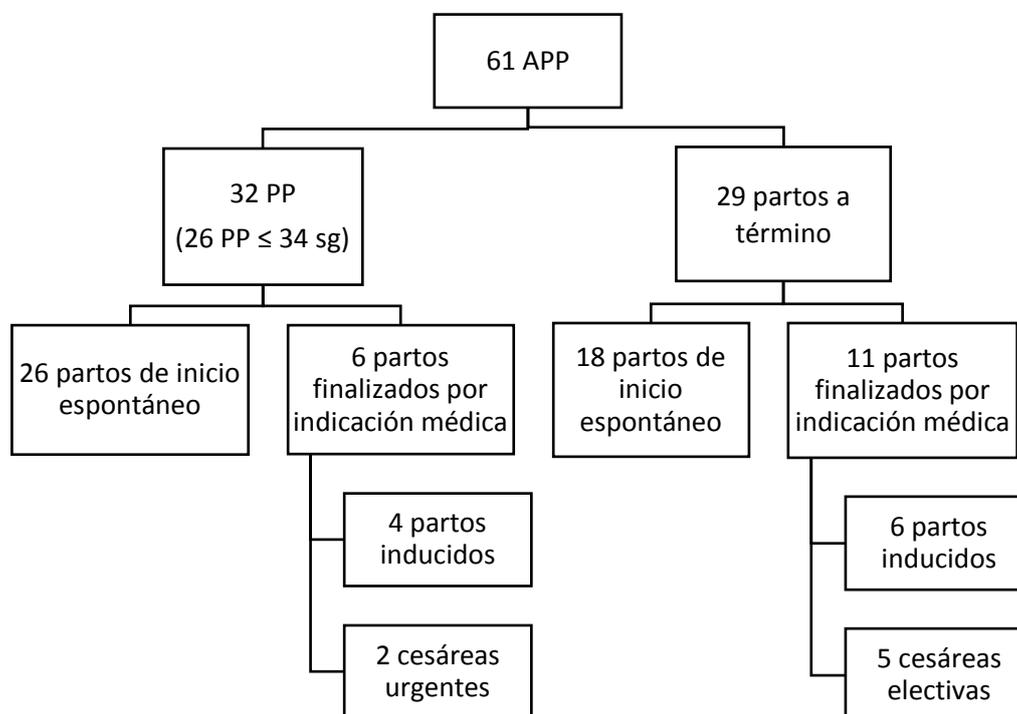


De las 61 APP sólo 32 (52.5%) finalizaron la gestación antes de la semana 37, frente a 5 gestantes en el grupo de los controles (7.8%). La tabla 11 recoge las características demográficas, antenatales y obstétricas de los tres grupos de estudio.

En la tabla 12 podemos ver los resultados obstétricos y neonatales. De las 32 gestantes con APP que tuvieron PP sólo 26 tuvieron un parto de inicio espontáneo, las 6 restantes finalizaron la gestación por criterio médico con más de una semana de diferencia respecto al episodio de APP: en 4 de ellas el parto fue inducido por RPM (tres de ellas a las 36 semanas y una a las 34) y 2 tuvieron una cesárea urgente por riesgo de pérdida de bienestar fetal a las 35 y 34 semanas. Finalmente se produjeron 24 partos vaginales (23 partos eutócicos y un instrumental mediante vacío) y 8 cesáreas (6 de ellas por riesgo de pérdida de bienestar fetal y 2 por DPPNI). Dos de

los recién nacidos presentaron síndrome de dificultad respiratoria al nacimiento y hubo 2 fallecimientos, uno de un recién nacido de 24 semanas por hemorragia intraventricular y otro de 28 semanas por enterocolitis necrotizante. De las 29 gestantes que tuvieron APP pero no tuvieron un PP, 18 iniciaron el parto de forma espontánea, 6 tuvieron un parto inducido médicamente (3 gestantes por oligoamnios, 1 por RPM y 2 por embarazo en vías de prolongación) y 5 tuvieron cesáreas electivas por diferentes motivos: cesárea iterativa, posición fetal diferente a la cefálica, indicación médica, etc. Finalmente se produjeron 23 partos vaginales (19 eutócicos y 4 instrumentales mediante vacuo) y 6 cesáreas (5 electivas y 1 por no progresión de parto)(figura 13).

Figura 13. Diagrama de flujo de la evolución y finalización de los casos de APP



De los 5 PP del grupo de los controles 4 fueron inducidos por criterio médico (RPM) y en 1 se realizó cesárea electiva por RPM y presentación podálica. Finalmente se realizaron 4 cesáreas (1 electiva y 3 urgentes por RPBF) y hubo un parto eutócico. Ningún PP se produjo por debajo de las 34 semanas.

Tabla 11. Características demográficas, antenatales y obstétricas de las gestantes con APP (casos), gestantes de la misma edad gestacional sin APP (controles) y gestantes a término con PDP.

Datos demográficos, antenatales y obstétricos	Controles (n=64)	PDP (n=31)	APP (n=61)	P
Edad gestacional al reclutamiento (semanas)	31.0 [5.0]	39.0 [1.0]	31.0 [5.0]	<0.001 ^{a,c,e}
Edad materna (años)	32.0 [6.0]	30.0 [10.5]	26.0 [11.0]	<0.05 ^{a,c} <0.001 ^b
Nulípara	44 (68.8)	17 (54.8)	47 (77)	<0.05 ^{c,e}
Etnia				
Caucásica	61 (95.3)	28 (90.3)	55 (92.2)	NS
Árabe	2 (3.1)	3 (9.7)	5 (8.2)	NS
Asiática	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.6)	NS
Sudamericana	1 (1.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	NS
Peso al reclutamiento (kg)	71.7±10.9	75.3±12.7	66.1±9.3	<0.05 ^{b,e} <0.001 ^{a,c}
Altura (m)	1.63 [0.05]	1.61 [0.04]	1.60 [0.07]	NS
IMC pregestacional (kg/m ²)	23.4 [4.5]	23.4 [6.9]	21.7 [4.2]	<0.05 ^{a,b,c}
Ganancia ponderal durante el embarazo (kg)	8.9±3.3	10.6±5.8	8.8±4.3	NS
Consumo de ácido fólico pregestacional	31 (49.2)	8 (25.8)	19 (31.1)	<0.05 ^{a,b}
Consumo de multivitamínicos en la gestación	57 (89.1)	29 (93.5)	50 (82.0)	NS
Fumadora durante la gestación	2 (3.1)	1 (3.2)	2 (3.3)	NS
Nº de abortos previos	0 [0.0]	0 [1.0]	0 [1.0]	<0.05 ^{a,b,d}
Amenaza de aborto en 1º trimestre	14 (21.9)	3 (9.7)	13 (21.3)	NS
Metrorragia 2º trimestre	6 (9.4)	1 (3.2)	17 (27.9)	<0.05 ^{a,b,c,d,e}
Antecedente personal de PP anterior	1 (1.6)	0 (0.0)	3 (4.9)	NS
Antecedente familiar de 1º grado de PP	7 (10.9)	1 (3.2)	15 (24.6)	<0.05 ^{c,e}
Antecedente personal de cirugía uterina	2 (3.1)	1 (3.2)	5 (8.2)	NS
Infección del tracto urinario	19 (29.7)	2 (6.5)	21 (34.4)	<0.05 ^{a,c}
SGB vaginal positivo	4 (6.3)	2 (6.5)	7 (11.5)	NS
Preeclampsia en actual gestación	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.6)	NS
Presión arterial sistólica (mmHg)	110.0 [20.0]	115.0 [16.0]	110.0 [19.0]	NS
Parto <37 semanas	120.0 [41.0]		110.0 [13.0]	NS
Parto ≥ 37 semanas	110.0 [20.0]		109.0 [22.0]	NS
Presión arterial diastólica (mmHg)	66.5 [18.0]	70.0 [16.5]	62.0 [13.0]	<0.05 ^c
Parto < 37 semanas	70.0 [30.0]		65.0 [16.0]	NS
Parto ≥ 37 semanas	65.0 [18.0]		60.0 [16.0]	NS
Longitud cervical al reclutamiento (mm)	36.0±6.5	14.2±9.6	16.9±7.1	<0.001 ^{a,b,d}
Parto < 37 semanas	31.4±8.8		13.5±7.6	<0.001 ^b
Parto ≥ 37 semanas	36.4±6.2		20.5±4.2	<0.001 ^b

Los datos están presentados como mediana [rango intercuartílico], media ± DE o frecuencias, n (%). NS: no significación estadística (p>0.05) en ninguna comparación.

^a: comparación de los 3 grupos de estudio

^b: comparación de casos frente a controles

^c: comparación de casos frente a PDP

^d: comparación de casos con parto \leq 34 semanas frente a controles

^e: comparación de casos con parto \leq 34 semanas frente a PDP

Tabla 12. Resultados obstétricos y neonatales en los tres grupos de estudio.

Datos obstétricos y neonatales	Controles (n=64)	PDP (n=31)	APP (n=61)	P
Inicio de parto				
Espontáneo	36 (56.3)	31 (100.0)	44 (72.1)	<0.001 ^{a,c,d}
Inducido	24 (37.5)	0 (0.0)	10 (16.4)	<0.001 ^{a,b,c,d}
Cesárea electiva	4 (6.2)	0 (0.0)	7 (11.5)	NS
Finalización				
Vaginal	47 (73.4)	29 (93.5)	47 (77.0)	<0.05 ^{a,c}
Eutócico	32/47	24/29	42/47	<0.05 ^{a,b,d}
Instrumental	15/47	5/29	5/47	<0.05 ^{a,b,d}
Cesárea	17 (26.6)	2 (6.5)	14 (23.0)	NS
Edad gestacional al parto (semanas)	40.0 [2.0]	39.0 [2.0]	36.0 [6.0]	<0.001 ^{a,b,c,d,e}
< 37 semanas	5 (7.8)		32 (52.5)	<0.001 ^b
\geq 37 semanas	59 (92.2)		29 (47.5)	<0.001 ^b
Peso neonatal (g)	3187.5 [508.0]	3140.0 [600.0]	2630 [1165.0]	<0.001 ^{a,b,c,d,e}
< 37 semanas	2420.0 [653.0]		2000.0 [1075.0]	<0.05 ^b
\geq 37 semanas	3215.0 [460.0]		3055.0 [603.0]	<0.05 ^b
Test de Apgar en minuto 1	9.0 [1.0]	9.0 [1.0]	9.0 [1.0]	<0.05 ^{d,e}
Test de Apgar en minuto 5	10.0 [0.0]	10.0 [0.0]	10.0 [0.0]	<0.05 ^{d,e}
Sexo fetal				
Mujer	33 (51.6)	16 (51.6)	28 (45.9)	NS
Hombre	31 (48.4)	15 (48.4)	33 (54.1)	NS
Muertes neonatales	0 (0.0)	0(0.0)	2 (3.3)	NS
Síndrome de distrés respiratorio agudo	1 (1.6)	0(0.0)	2 (3.3)	NS
Enterocolitis necrotizante	0 (0.0)		1 (1.6)	NS

Los datos están presentados como mediana [rango intercuartílico], media \pm DE o frecuencias, n (%).

^a: comparación de los 3 grupos de estudio

^b: comparación de casos frente a controles

^c: comparación de casos frente a PDP

^d: comparación de casos con parto \leq 34 semanas frente a controles

^e: comparación de casos con parto \leq 34 semanas frente a PDP

V.1.1. Características maternas, obstétricas y neonatales

El grupo de los casos (APP) comparados con los dos grupos control (el apareado por edad gestacional y el grupo de PDP) presentaban menor edad ($p < 0.001$ y $p = 0.007$, respectivamente), menor peso al reclutamiento ($p = 0.004$ y $p < 0.001$, respectivamente) y menor IMC pregestacional ($p = 0.008$ y $P = 0.003$, respectivamente). Los casos presentaron una menor longitud cervical que los controles emparejados por edad gestacional ($p < 0.001$) y una longitud cervical similar al grupo de PDP. Las figuras 14, 15, 16 y 17 muestran la distribución de las anteriores variables en los diferentes grupos de estudio. Los casos también presentaron un menor consumo de ácido fólico comparados con los controles ($p = 0.038$) así como mayor número de abortos previos ($p = 0.049$) y mayor incidencia de metrorragia en el segundo trimestre ($p = 0.015$). Cuando comparamos los casos que tuvieron PP con los controles que también lo tuvieron observamos que los casos presentaron una longitud cervical menor al reclutamiento que los controles ($p < 0.001$); de la misma forma los casos con parto a término también presentaron una menor longitud cervical al reclutamiento que los controles que tuvieron parto a término ($p < 0.001$). Al comparar casos con PDP se encontraron entre los casos más gestantes nulíparas ($p = 0.035$) y con antecedentes familiares de PP ($p = 0.024$), mayor tasa de infecciones del tracto urinario ($p = 0.007$), mayor incidencia de metrorragia del segundo trimestre ($p = 0.011$) y menor tensión arterial diástolica ($p = 0.044$).

Figura 14. Diagrama de caja en el que se muestra la distribución de la edad materna expresada en años en los tres grupos de estudio.

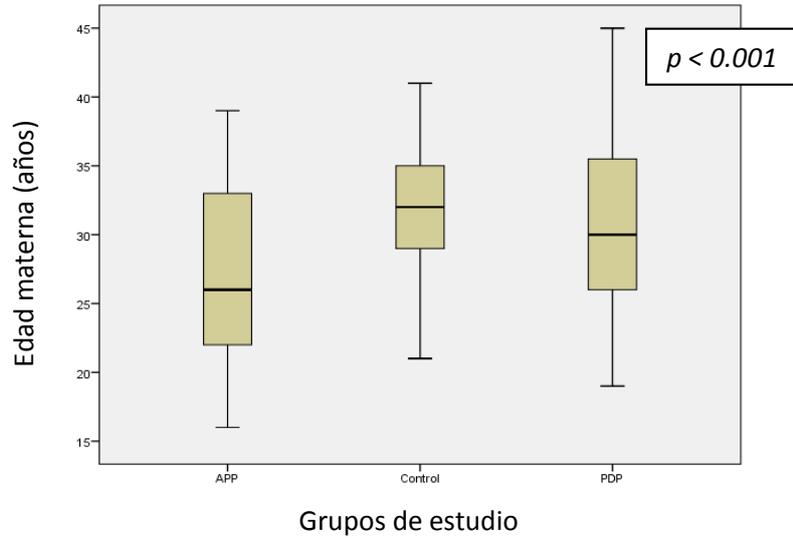


Figura 15. Diagrama de caja en el que se muestra la distribución del peso materno expresada en kg al reclutamiento en los tres grupos de estudio.

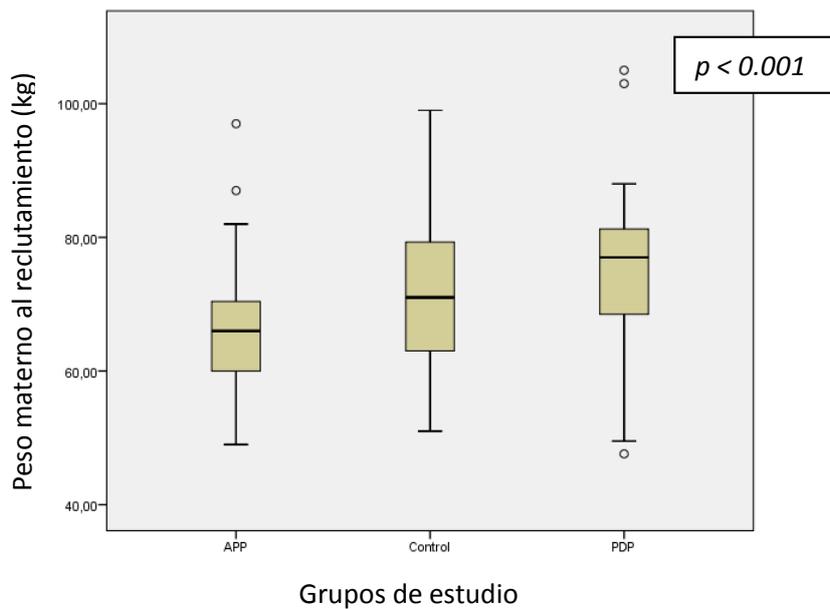


Figura 16. Diagrama de caja en el que se muestra la distribución del IMC expresado en kg/m² en los tres grupos de estudio.

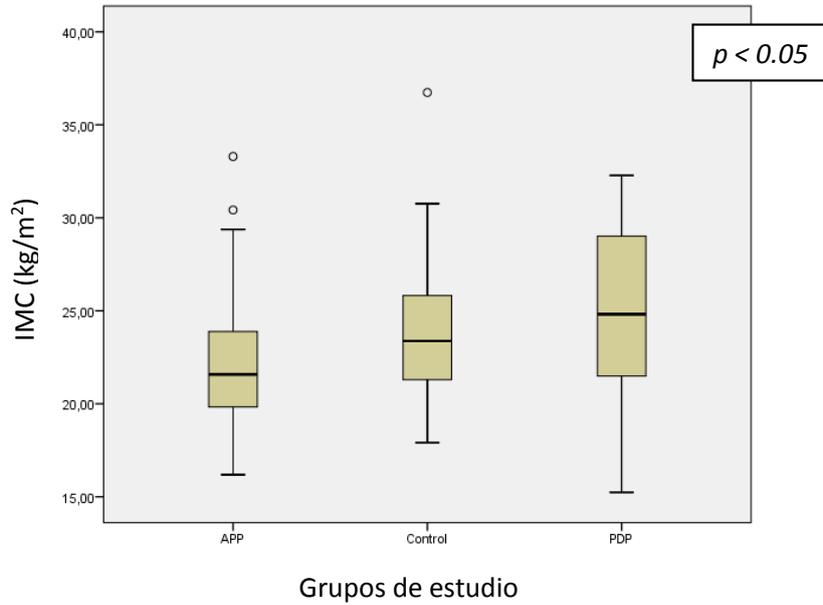
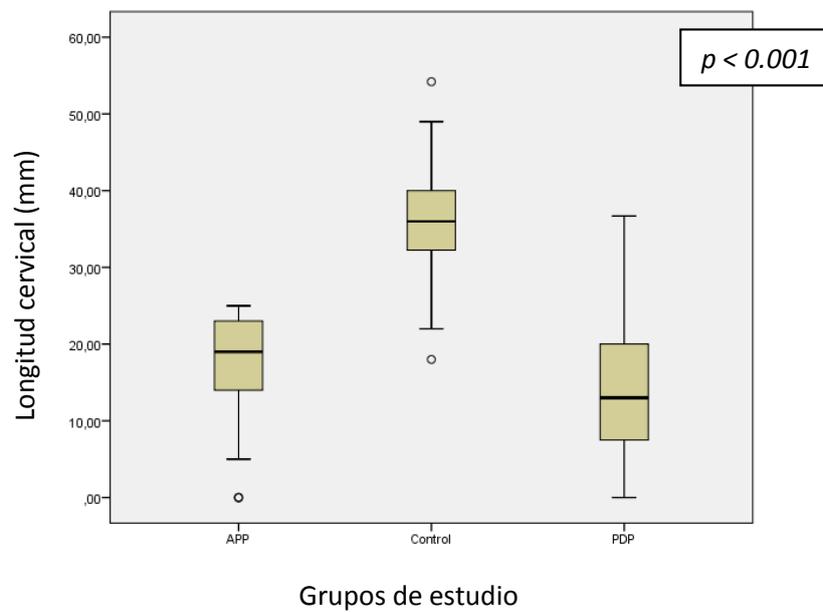


Figura 17. Diagrama de caja en el que se muestra la distribución de la longitud cervical expresada en mm en los tres grupos de estudio.



Respecto a los resultados obstétricos y neonatales los casos (APP) presentaron menor edad gestacional en el momento del parto y menor peso neonatal al nacimiento respecto a los controles y PDP. El peso fetal al nacimiento en los casos que tuvieron PP menor de 37 semanas también fue menor que aquellos PP menor de 37 semanas entre los controles ($p=0.027$), así como el peso fetal de los nacidos a término en los casos fue también menor que el de los nacidos a término en los controles ($p=0.033$). El número de partos inducidos fue menor en los casos que en los controles. No hubo diferencias en la forma de finalización de la gestación (parto vaginal vs cesárea) entre los casos y controles, aunque sí entre casos y PDP ($p=0.041$), siendo más frecuente el parto vaginal entre los PDP; sin embargo, considerando sólo los partos vaginales los casos presentaron mayor número de partos eutócicos que los controles, los cuales presentaron más partos instrumentalizados ($p=0.029$).

V.1.1.1. Parto pretérmino (< 37 semanas) vs parto a término (≥ 37 semanas)

Tras estratificar los casos con APP por PP antes de las 37 semanas y posterior (32 PP vs 29 partos a término) comprobamos que las pacientes que finalizaron la gestación antes de las 37 semanas presentaban un mayor peso en el momento de la inclusión en el estudio ($p=0.005$), una menor longitud cervical ($p<0.001$) y una tensión arterial diastólica más alta ($p=0.037$). Las figuras 18,19 y 20 muestran cómo se distribuyen las anteriores variables en los dos grupos de estudio. Tras realizar la misma comparación pero excluyendo los 6 casos de PP cuya finalización de parto no fue espontánea sino inducida médicamente (26 PP vs 29 partos a término) los resultados fueron similares: las gestaciones que finalizaron antes de las 37 semanas presentaron mayor peso ($p=0.03$) y menor longitud cervical ($p<0.001$), sin embargo no se objetivaron diferencias en la tensión arterial diastólica comparado con las que tuvieron un parto a término.

Cuando se comparan los controles que tuvieron parto < 37 semanas frente a los que lo tuvieron por encima de las 37 semanas no se encontraron diferencias en ninguna de las variables

estudiadas a excepción de la edad materna, la cual fue menor entre los que tuvieron PP ($p=0.028$). Tampoco se encontraron diferencias en la longitud cervical entre las que tuvieron PP y las que no ($p=0.097$).

Figura 18. Diagrama de caja en el que se muestra la distribución del peso materno expresado en kg en los casos (APP) estratificados según parto pretérmino vs a término.

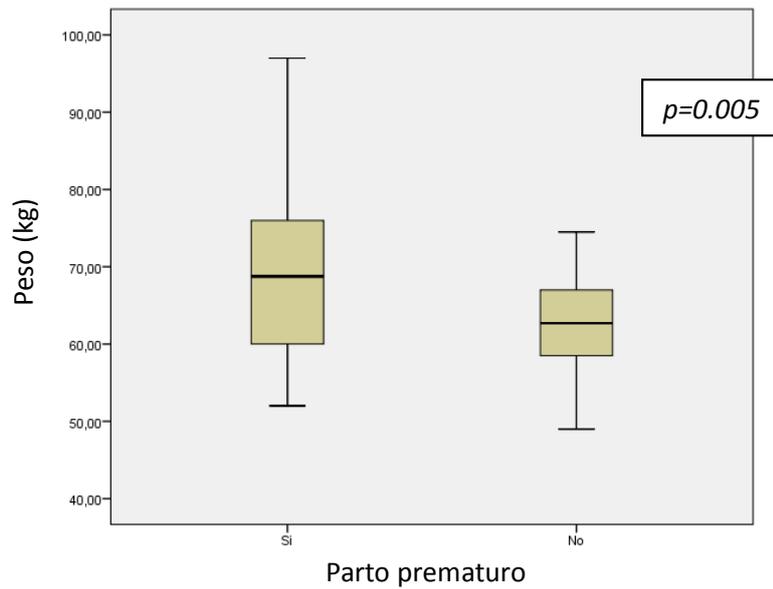


Figura 19. Diagrama de caja en el que se muestra la distribución de la longitud cervical expresada en mm en el momento de la inclusión en el estudio en los casos (APP) estratificados según parto pretérmino vs a término.

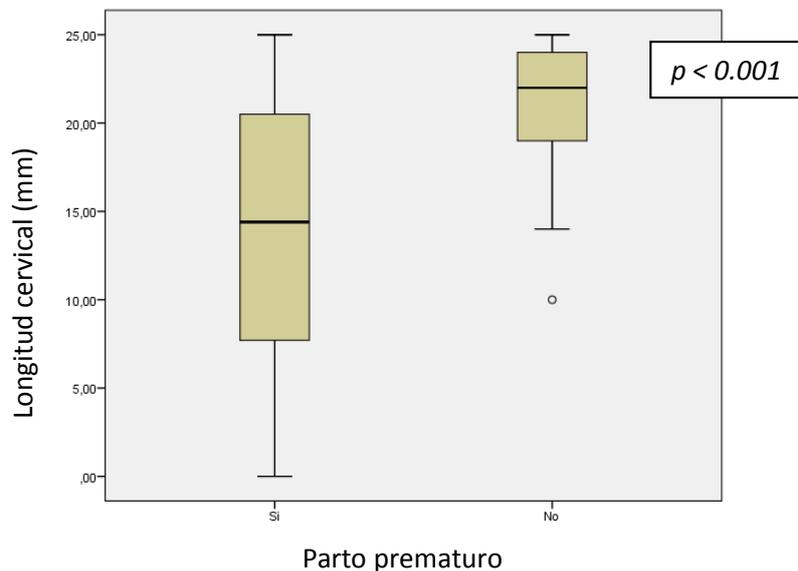
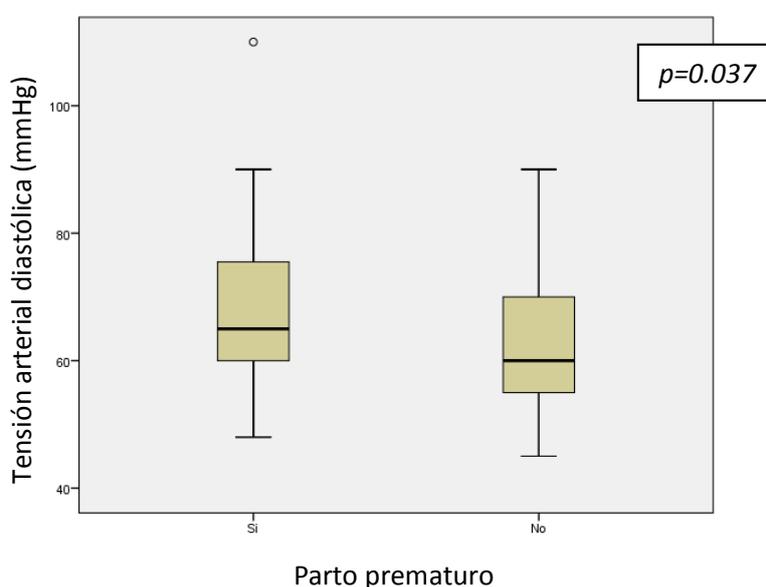


Figura 20. Diagrama de caja en el que se muestra la distribución de la tensión arterial diastólica expresada en mmHg en el momento de la inclusión en el estudio en los casos (APP) estratificados según parto pretérmino vs a término.



Los casos (APP) que tuvieron parto por debajo de las 37 semanas presentaron menor peso neonatal al nacimiento ($p < 0.001$) y menor puntuación en el test de Apgar tanto en el minuto 1 ($p < 0.001$) como en el 5 ($p = 0.001$) con respecto a los partos a término. No se observaron diferencias en la forma de inicio del parto ni en la terminación del mismo entre los casos pretérmino y los finalizados a término.

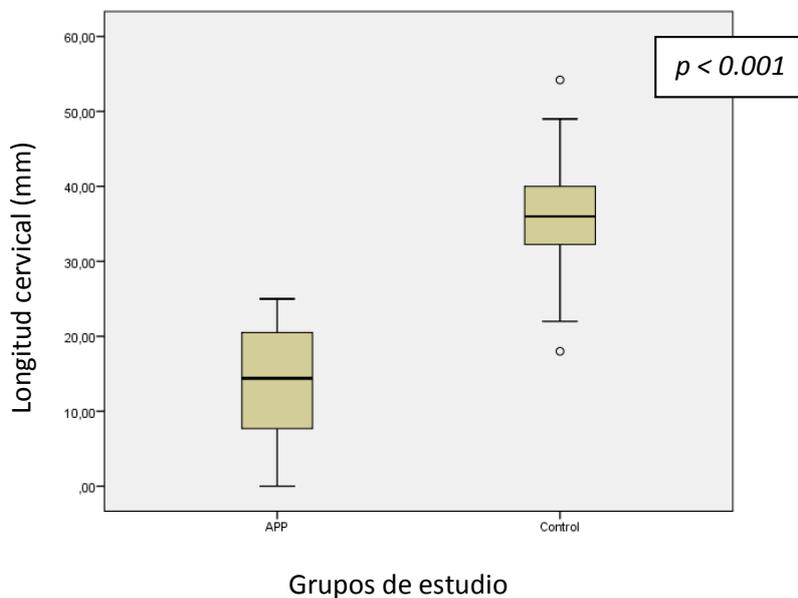
Los controles que tuvieron parto inferior a las 37 semanas presentaron menor tasa de parto vaginal ($p = 0.015$) y pesos neonatales inferiores ($p < 0.001$) que los controles que tuvieron parto por encima de las 37 semanas.

V.1.1.2. Casos (APP) con parto ≤ 34 semanas vs controles

Los casos con parto ≤ 34 semanas ($n = 26$) presentaron una menor longitud cervical ($p < 0.001$) que los controles ($n = 64$) (figura 21). También tuvieron mayor tasa de inicio espontáneo de parto

($p=0.029$), menor peso neonatal ($p<0.001$) y menor puntuación en el test de Apgar al minuto 1 ($p=0.003$) y al minuto 5 ($p=0.001$) que los controles. No existieron diferencias en la forma de terminación del parto (vaginal vs cesárea). Sin embargo, entre los partos vaginales, sí que hubo un mayor número de partos eutócicos en los casos con parto ≤ 34 semanas frente a los controles. La comparación entre los casos de PP ≤ 34 semanas que iniciaron el parto de forma espontánea ($n=24$) y los controles no mostró ninguna diferencia respecto al anterior análisis considerando todos los casos pretérmino ≤ 34 semanas ($n=26$).

Figura 21. Diagrama de caja en el que se muestra la distribución de la longitud cervical expresada en mm entre los casos (APP) con parto ≤ 34 semanas y los controles.



V.1.1.3. Casos (APP) con parto ≤ 34 semanas vs PDP

Los casos presentaron mayor índice de nuliparidad ($p= 0.034$), más antecedentes familiares de PP ($p=0.039$) y mayor incidencia de metrorragia del segundo trimestre ($p=0.003$) que los PDP. Además también presentaron menores pesos fetales al nacimiento ($p<0.001$) y puntuaciones en el test de Apgar al minuto uno ($p=0.001$) y cinco ($p=0.001$) comparados con los PDP. No hubo diferencias en cuanto a la edad materna, al IMC pregestacional ni la vía de finalización del parto

(vaginal vs cesárea). La comparación entre los casos de PP ≤ 34 semanas que iniciaron el parto de forma espontánea (n=24) y los PDP no mostró ninguna diferencia respecto al anterior análisis considerando todos los casos pretérmino ≤ 34 semanas (n=26).

V.1.2. Longitud cervical en el parto prematuro según la edad gestacional

Realizando otra subclasificación dentro de los casos se observó que no existían diferencias en cuanto a la longitud cervical según la edad gestacional en el momento del reclutamiento (≤ 32 semanas vs > 32 semanas), así tampoco cuando se consideró solamente las pacientes con PP y PP de inicio espontáneo (tabla 13). Sin embargo, pudimos observar que las pacientes que tuvieron PP (de inicio espontáneo y las que no) y que presentaban < 32 semanas al reclutamiento presentaban menor longitud cervical que las que presentando también < 32 semanas no lo tuvieron, de igual manera que ocurrió al comparar las que tuvieron PP > 32 semanas y las que no (tablas 14 y 15) (figura 22).

Tabla 13. Comparación de la longitud cervical según edad gestacional < 32 ó > 32 semanas en los casos, casos con PP y casos con PP de inicio espontáneo.

Casos (n=61)	≤ 32 semanas (n=41)	> 32 semanas (n=20)	<i>p</i>
LC al reclutamiento (mm)	17.9 \pm 6.8	14.7 \pm 7.5	0.105
Casos con PP (n=32)	≤ 32 semanas (n=23)	> 32 semanas (n=9)	<i>p</i>
LC al reclutamiento (mm)	14.6 \pm 7.1	10.8 \pm 8.6	0.205
Casos con PP de inicio espontáneo (n= 26)	≤ 32 semanas (n=20)	> 32 semanas (n=6)	<i>p</i>
LC al reclutamiento (mm)	13.8 \pm 7.0	7.8 \pm 7.4	0.086

LC: longitud cervical; los datos están representados como media \pm DE

Tabla 14. Comparación de la longitud cervical según PP o a término en los casos de < 32 semanas y > 32 semanas.

Casos < 32 semanas (n=41)	PP (n=23)	No PP (n=18)	<i>p</i>
LC al reclutamiento (mm)	14.6 ±7.1	22.1 ±3.2	<0.001
Casos > 32 semanas (n=20)	PP (n=9)	No PP (n=11)	<i>p</i>
LC al reclutamiento (mm)	10.8 ±8.6	18 ±4.5	<0.05

LC: longitud cervical; los datos están representados como media ± DE

Figura 22. Diagrama de caja en el que se muestra la distribución de la longitud cervical en las gestantes de < 32 semanas y > 32 semanas según tuvieron PP o a término.

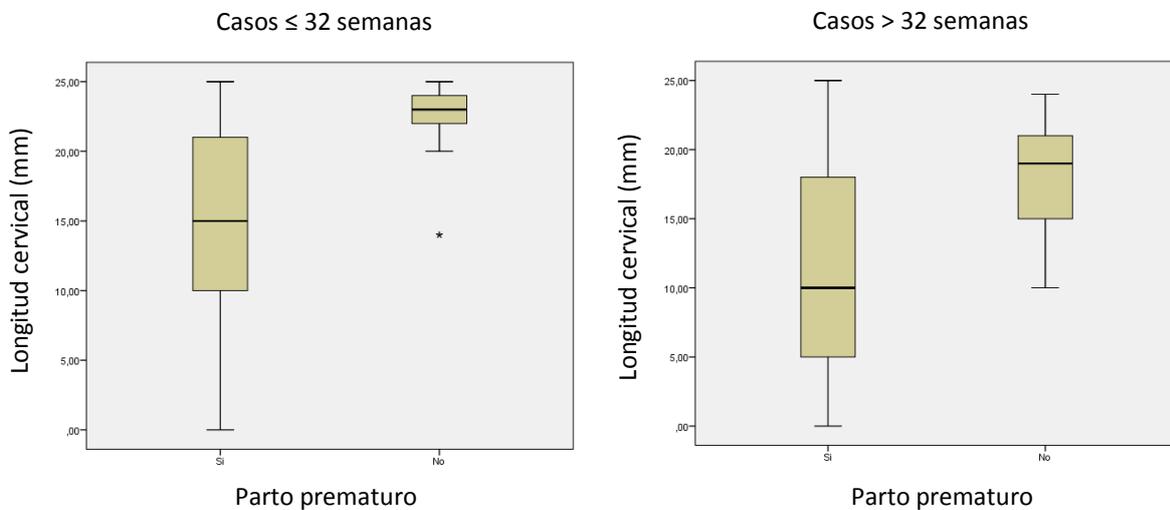


Tabla 15. Comparación de la longitud cervical según PP de inicio espontáneo o no en los casos de < 32 semanas y > 32 semanas.

Casos < 32 semanas (n=41)	PP de inicio espontáneo (n=20)	No PP de inicio espontáneo + No PP (n=21)	<i>p</i>
LC al reclutamiento (mm)	13.8 ±7.0	21.8 ±3.4	<0.001
Casos > 32 semanas (n=20)	PP de inicio espontáneo (n=6)	No PP de inicio espontáneo + No PP (n=14)	<i>p</i>
LC al reclutamiento (mm)	7.8 ±7.4	17.7 ±5.3	<0.05

LC: longitud cervical; los datos están representados como media ± DE

Cuando seleccionamos sólo los casos con PP < 37 semanas se observó que existían diferencias estadísticamente significativas en la media de la longitud cervical según si el parto se produjo en la primera semana desde el diagnóstico de APP o pasada al menos una semana como mínimo entre el diagnóstico y el parto (tabla 16). Cuando estratificamos los casos según tuvieron PP < 32 semanas o > 32 semanas obtuvimos que las que tuvieron PP < 32 semanas y el parto se produjo en la primera semana del diagnóstico presentaban una menor longitud cervical (11.2 ± 7.0) pero la diferencia no resultó significativa con respecto a las que lo tuvieron pasada la primera semana (18.3 ± 6.7); sin embargo, aquellas con PP > 32 semanas si presentaron una diferencia significativa en la longitud cervical según si el parto fue en la primera semana de diagnóstico (6.6 ± 7.6) o no (19.7 ± 4.7) ($p < 0.001$).

Tabla 16. Comparación de la longitud cervical según PP durante la primera semana tras el diagnóstico o tras la primera semana.

Casos con PP (n=32)	Parto < 1 semana (n=17)	Parto ≥ 1 semana (n=15)	<i>p</i>
LC al reclutamiento (mm)	9.8 ± 7.3	17.7 ± 5.7	0.002

LC: longitud cervical

V.1.3. Marcadores séricos

Los casos (APP) mostraron recuentos superiores de leucocitos ($p=0.005$) y PCR ($p=0.015$) respecto a los controles emparejados por edad gestacional, así como de IL-6 ($p=0.002$), IL-8 ($p=0.037$) e IL-10 ($p < 0.001$) comparado con los controles emparejados por edad gestacional y con los PDP. La relación fue significativamente superior para la IL-10. Por otro lado, los casos también presentaron niveles superiores de IL-7 ($p=0.040$) y TNF-alfa ($p=0.008$) así como menores de GMC-SF ($p=0.010$) comparado con los PDP. No se observaron diferencias significativas entre los casos y los controles que presentaban parto < 37 semanas y parto > 37 semanas (tabla 17).

Tabla 17. Parámetros estudiados (en el momento de la inclusión en el estudio) en el suero materno de las gestantes con APP (casos), gestantes de la misma edad gestacional sin APP (controles) y gestantes a término con PDP.

Parámetros séricos	Controles (n=64)	PDP (n=31)	Casos (APP) (n=61)	p
Recuento de leucocitos ($\times 10^6/\text{mL}$)	9.5 [2.8]	10.7 [4.4]	11.1 [4.3]	<0.005 ^{a,b,d}
Parto < 37 semanas	8.6 [3.3]		11.2 [5.8]	NS
Parto > 37 semanas	9.6 [2.8]		11.0 [3.6]	NS
PCR (mg/mL)	0.3 [0.4]	0.5 [0.7]	0.5 [0.8]	<0.05 ^{a,b} <0.001 ^d
Parto < 37 semanas	0.4 [0.4]		0.9 [1.4]	NS
Parto > 37 semanas	0.3 [0.3]		0.4 [0.3]	NS
GM-CSF (pg/mL)	2.8 [10.6]	7.7 [24.1]	1.2 [3.2]	<0.05 ^{a,c,d,e}
Parto < 37 semanas	0.5 [1.4]		0.9 [1.8]	NS
Parto > 37 semanas	3.4 [11.3]		1.6 [9.9]	NS
IL-1β (pg/mL)	0.4 [0.8]	0.6 [2.5]	0.3 [0.9]	NS
Parto < 37 semanas	0.1 [0.2]		0.2 [2.5]	NS
Parto > 37 semanas	0.4 [0.9]		0.4 [0.6]	NS
IL-2 (pg/mL)	1.2 [6.3]	1.6 [14.9]	1.1 [6.6]	NS
Parto < 37 semanas	1.6 [3.4]		0.8 [12.2]	NS
Parto > 37 semanas	1.2 [6.9]		1.5 [4.9]	NS
IL-4 (pg/mL)	1.8 [3.9]	1.8 [3.2]	1.7 [5.6]	NS
Parto < 37 semanas	0.1 [4.7]		1.0 [4.8]	NS
Parto > 37 semanas	1.8 [4.0]		1.8 [10.2]	NS
IL-5 (pg/mL)	0.3 [0.5]	0.4 [0.8]	0.3 [0.6]	NS
Parto < 37 semanas	0.1 [0.2]		0.5 [0.4]	NS
Parto > 37 semanas	0.3 [0.5]		0.4 [0.9]	NS
IL-6 (pg/mL)	3.1 [13.1]	3.1 [11.3]	9.0 [28.4]	<0.05 ^{a,b,c} <0.001 ^{d,e}
Parto < 37 semanas	8.9 [25.8]		18.8 [51.4]	NS
Parto > 37 semanas	3.0 [13.2]		3.8 [8.6]	NS
IL-7 (pg/mL)	8.1 [21.2]	6.6 [16.0]	12.9 [11.0]	<0.05 ^{c,d,e}
Parto < 37 semanas	26.4 [31.8]		15.0 [19.3]	NS
Parto > 37 semanas	6.9 [19.2]		9.0 [12.0]	NS
IL-8 (pg/mL)	6.0 [7.0]	5.5 [5.7]	7.3 [19.3]	<0.05 ^{a,b,d,e}
Parto < 37 semanas	7.0 [155.3]		11.6 [54.9]	NS
Parto > 37 semanas	5.6 [7.2]		5.5 [7.4]	NS
IL-10 (pg/mL)	19.0 [38.3]	15.8 [29.2]	46.8 [58.7]	<0.001 ^{a,b,c,d,e}
Parto < 37 semanas	28.5 [97.8]		53.4 [49.0]	NS
Parto > 37 semanas	18.6 [35.0]		30.0 [64.7]	NS
IL-12 (pg/mL)	1.9 [4.2]	1.9 [2.6]	2.0 [15.0]	NS
Parto < 37 semanas	0.1 [2.3]		5.3 [20.6]	NS

Parto >37 semanas	2.0 [4.5]		1.7 [11.4]	NS
IL-13 (pg/mL)	0.4 [2.0]	0.1 [1.1]	0.1 [3.9]	NS
Parto < 37 semanas	0.13 [0.00]		0.1 [11.0]	NS
Parto > 37 semanas	0.5 [2.2] ^e		0.1 [1.6]	NS
INF-γ (pg/mL)	6.3 [9.7]	6.9 [6.3]	7.0 [19.7]	NS
Parto < 37 semanas	9.3 [8.7]		7.8 [20.2]	NS
Parto > 37 semanas	6.1 [9.9]		6.3 [17.5]	NS
TNF-α (pg/mL)	4.5 [7.5]	3.4 [4.6]	6.9 [8.9]	<0.05 ^{a,c,d,e}
Parto < 37 semanas	16.2 [20.3]		8.9 [12.7]	NS
Parto > 37 semanas	3.9 [5.8]		5.0 [6.8]	NS

Los datos están presentados como mediana [rango intercuartílico], media \pm DE o frecuencias, n (%).

NS: no significación estadística ($p > 0.05$) en ninguna comparación.

^a: comparación de los 3 grupos de estudio

^b: comparación de casos frente a controles

^c: comparación de casos frente a PDP

^d: comparación de casos con parto ≤ 34 semanas frente a controles

^e: comparación de casos con parto ≤ 34 semanas frente a PDP

V.1.3.1. Parto pretérmino (< 37 semanas) vs parto a término (≥ 37 semanas)

Tras estratificar los casos (APP) según tuvieron PP o a término se observó que las gestantes con parto < 37 semanas presentaban niveles mayores de leucocitos, PCR, IL-6, IL-7, IL-8 y TNF-alfa así como niveles menores de GM-CSF respecto a las que tuvieron un parto a término. Al excluir los 6 casos que tuvieron PP no espontáneo hallamos valores similares a los anteriores con la excepción de la IL-10 cuyo valor fue significativamente mayor en las gestantes que tuvieron PP de inicio espontáneo respecto a las que tuvieron parto a término.

Cuando estratificamos a los controles según tuvieron parto < 37 semanas o > a 37 semanas observamos que los PP presentaban niveles más bajos de GM-CSF e IL1-beta, así como niveles mayores de IL-7, IL-13 y TNF-alfa en comparación con los partos a término (tabla 18).

Dado que todas las pacientes que fueron incluidas como APP recibieron tratamiento tocolítico, ya que cumplían con los criterios para recibirlo, se pudo observar como aquellas que no respondieron al mismo y que por tanto tuvieron PP dentro de los siguientes 7 días al inicio del

tratamiento presentaron niveles superiores de PCR ($p < 0.001$), IL-6 ($p < 0.001$), IL-7 ($P = 0.008$), IL-8 ($p = 0.002$), IL-10 ($p = 0.002$) y TNF-alfa ($p = 0.002$).

Tabla 18. Parámetros séricos maternos con significación estadística tras estratificar los casos y los controles según parto < 37 semanas y > 37 semanas.

Casos (n=61)	Parto < 37 sg (n=32)	Parto ≥ 37sg (n=29)	p
Recuento de leucocitos ($\times 10^6/\text{mL}$)	11.1 [5.6]	11 [3.6]	0.374
PCR (mg/mL)	0.82 [1.6]	0.37 [0.2]	0.009
GM-CSF (pg/mL)	0.8 [1.8]	1.5 [9.8]	0.036
IL-6 (pg/mL)	23 [58.2]	3.7 [8.6]	<0.001
IL-7 (pg/mL)	16.3 [22.9]	9 [12.5]	0.015
IL-8 (pg/mL)	12.4 [56.6]	5.5 [7.3]	0.021
IL-10 (pg/mL) (Sólo si PP espontáneo; n=26)	56.3 [42.5]	30 [64.7]	0.047
TNF- α (pg/mL)	8.9 [13.7]	5 [6.7]	0.021
Controles (n=64)	Parto < 37 sg (n=5)	Parto ≥ 37 sg (n=59)	p
IL-1 β (pg/mL)	0.1 [0.1]	0.4 [0.8]	0.045
GM-CSF (pg/mL)	0.5 [1.4]	3.4 [11.3]	0.034
IL-7 (pg/mL)	26.4 [31.8]	6.9 [19.2]	0.048
IL-13 (pg/mL)	0.13 [0.0]	0.5 [2.2]	0.023
TNF- α (pg/mL)	16.2 [20.1]	3.8 [5.8]	0.009

Los datos están presentados como mediana [rango intercuartílico],

V.1.3.2. Casos (APP) con parto ≤ 34 semanas vs controles

Cuando comparamos los casos que presentaron PP ≤ 34 semanas (n=26) con los controles pudimos observar que éstos presentaban niveles superiores de leucocitos ($P = 0.007$) y PCR ($p < 0.001$), así como de IL-6 ($p < 0.001$), IL-7 ($p = 0.039$), IL-8 ($p = 0.002$), IL-10 ($p < 0.001$) y TNF-alfa ($p = 0.011$) y niveles menores de GM-CSF ($p = 0.009$) que los controles. No se obtuvieron diferencias frente a los resultados anteriormente mostrados cuando comparamos las gestantes con PP ≤ 34 semanas que tuvieron inicio espontáneo de parto (n=24) con los controles.

V.1.3.3. Casos (APP) con parto ≤ 34 semanas vs PDP

Los casos con parto ≤ 34 semanas, comparados con los PDP, presentaron niveles superiores de IL-6 ($p < 0.001$), IL-7 ($p = 0.016$), IL-8 ($p = 0.005$), IL-10 ($p < 0.001$) y TNF-alfa ($p = 0.002$) y niveles menores de GM-CSF ($p = 0.004$).

V.2. Análisis bivariante

Se han explorado las relaciones de dependencia entre las variables utilizadas, estudiando las correlaciones de las diferentes variables entre sí. A continuación veremos dichas relaciones en los tres modelos de estudio: Casos (APP) vs controles, sólo casos (APP) y casos (APP) vs PDP.

V.2.1. Casos (APP) vs controles

Se ha observado que la edad gestacional al parto se relacionó positivamente con la longitud cervical ($p < 0.001$; $\rho: +0.633$) y el GM-CSF ($p = 0.038$; $\rho: +0.186$) e inversamente con los niveles de PCR ($p < 0.001$; $\rho: -0.369$), IL-6 ($p < 0.001$; $\rho: -0.369$), IL-7 ($p = 0.019$; $\rho: -0.210$), IL-8 ($p = 0.006$; $\rho: -0.246$), IL-10 ($p = 0.001$; $\rho: -0.289$) y TNF-alfa ($p = 0.02$; $\rho: -0.276$). De la misma manera la PCR ($p = 0.001$; $\rho: -0.307$), IL-6 ($p < 0.001$; $\rho: -0.40$), IL-7 ($p = 0.01$; $\rho: -0.23$), IL-8 ($p = 0.006$; $\rho: -0.24$), IL-10 ($\rho: -0.26$) y TNF-alfa ($p = 0.001$; $\rho: -0.29$) también se han relacionado con menores pesos fetales al nacimiento y el GM-CSF ($p = 0.008$; $\rho: +0.24$), al contrario de los demás, ha presentado una relación positiva. La PCR y la IL-6 se han relacionado inversamente con la puntuación en el test de Apgar al minuto ($p = 0.046$, $\rho: -0.18$ y $p = 0.016$, $\rho: -0.22$; respectivamente) y a los 5 minutos ($p < 0.001$, $\rho: -0.32$ y $p = 0.011$, $\rho: -0.23$; respectivamente).

La longitud cervical presentó una relación inversa con los niveles séricos de leucocitos ($p = 0.026$; $\rho: -0.19$), PCR ($p = 0.005$; $\rho: -0.25$), IL-6 ($p = 0.004$; $\rho: -0.26$), IL-10 ($p = 0.003$; $\rho: -0.27$) y TNF-alfa ($p = 0.034$; $\rho: -0.19$); y positiva con el GM-CSF ($p = 0.018$; $\rho: +0.21$). Un menor consumo

de ácido fólico se relacionó con un mayor nivel de leucocitos ($p=0.02$) e IL-8 ($p=0.03$) en sangre materna. Las gestantes con infección vaginal por SGB presentaron mayores niveles séricos de PCR ($p=0.04$), IL-6 ($p=0.02$), IL-7 ($p=0.01$), IL-10 ($p=0.04$) e IFN-gamma ($p=0.04$); mientras que en las fumadoras los niveles de IL-1beta y GM-CSF fueron más elevados ($p=0.03$ en ambos casos). Aquellas gestantes con antecedente de PP anterior inferior a 34 semanas tuvieron mayores niveles de PCR en suero materno ($p=0.005$) en comparación con las que no lo tuvieron. La paridad se relacionó positivamente con los niveles de GM-CSF ($p=0.01$; rho: 0.204). Las gestantes que presentaron metrorragia del segundo trimestre presentaban mayores niveles de PCR ($p=0.016$), IL-6 ($p=0.007$), IL-8 ($p=0.031$) e IL-10 ($p=0.027$) y las que tuvieron amenaza de aborto en el primer trimestre mayores niveles de IL-8 ($p=0.040$). No se encontró relación entre los niveles séricos de leucocitos, PCR ni IL con la edad materna, IMC, peso, infección del tracto urinario ni con el consumo de vitaminas durante el embarazo.

Los niveles de leucocitos en sangre materna se relacionaron positivamente con los niveles de PCR y los de PCR se relacionaron positivamente con los de IL-6, IL-8 y TNF-alfa. Las IL-2, 6, 7, 8, 10, 12, TNF-alfa, INF-gamma y GM-CSF se correlacionaron todas positivamente entre sí excepto con el GM-CSF cuya relación fue inversa con todas a excepción de la IL-2, 12 e IFN-gamma así como nula con la IL-8. Las IL-1beta, 2, 4, 5, 12, 13 y GM-CSF se correlacionaron todas positivamente entre sí. Además la IL-8 se relacionó positivamente con la IL-1beta y el INF-gamma con la IL-4, 5, 12 y 13. En la tabla 19 se muestran todas las interrelaciones entre sí.

Tabla 19. Correlación entre todos los parámetros séricos medidos en suero materno entre las gestantes con APP (casos) y controles (I).

Marcadores séricos		PCR	Leucocitos	GMCSF	IFNgamma	IL10	IL12	IL13	IL1beta	IL2	IL4	IL5	IL6	IL7	IL8	TNFalpha
PCR	Coef. Correl. (Rho)	1,000	,292	-,158	-,045	,140	,017	,060	-,083	-,003	-,028	,036	,324	,118	,203	,276
	Sig. (bilateral)	.	,001	,082	,622	,124	,856	,514	,362	,973	,756	,693	,000	,194	,025	,002
Leucocitos	Coef. Correl.(Rho)	,292	1,000	-,047	-,137	,087	-,122	-,155	-,051	-,158	,026	-,028	,077	,010	,144	,045
	Sig. (bilateral)	,001	.	,605	,128	,337	,176	,085	,572	,079	,770	,759	,391	,915	,110	,617
GMCSF	Coef. Correl.(Rho)	-,158	-,047	1,000	,246	-,219	,227	,403	,544	,427	,400	,506	-,249	-,256	-,113	-,205
	Sig. (bilateral)	,082	,605	.	,006	,014	,011	,000	,000	,000	,000	,000	,005	,004	,208	,022
IFNgamma	Coef. Correl. (Rho)	-,045	-,137	,246	1,000	,360	,549	,370	,538	,530	,282	,231	,359	,370	,327	,274
	Sig. (bilateral)	,622	,128	,006	.	,000	,000	,000	,000	,000	,001	,010	,000	,000	,000	,002
IL10	Coef. Correl.(Rho)	,140	,087	-,219	,360	1,000	,342	,070	,098	,282	,015	-,043	,705	,672	,619	,560
	Sig. (bilateral)	,124	,337	,014	,000	.	,000	,436	,276	,001	,870	,637	,000	,000	,000	,000
IL12	Coef. Correl.(Rho)	,017	-,122	,227	,549	,342	1,000	,451	,430	,522	,184	,358	,393	,320	,277	,368
	Sig. (bilateral)	,856	,176	,011	,000	,000	.	,000	,000	,000	,039	,000	,000	,000	,002	,000
IL13	Coef. Correl.(Rho)	,060	-,155	,403	,370	,070	,451	1,000	,299	,321	,271	,585	,082	,149	,020	,016
	Sig. (bilateral)	,514	,085	,000	,000	,436	,000	.	,001	,000	,002	,000	,362	,097	,828	,859
IL1beta	Coef. Correl.(Rho)	-,083	-,051	,544	,538	,098	,430	,299	1,000	,686	,364	,322	,155	,167	,193	,082
	Sig. (bilateral)	,362	,572	,000	,000	,276	,000	,001	.	,000	,000	,000	,085	,063	,031	,362
IL2	Coef. Correl.(Rho)	-,003	-,158	,427	,530	,282	,522	,321	,686	1,000	,373	,275	,298	,327	,206	,225
	Sig. (bilateral)	,973	,079	,000	,000	,001	,000	,000	,000	.	,000	,002	,001	,000	,021	,012

Coef.Correl.: coeficiente de correlación de Spearman (Rho); Sig: significación (=p). En rojo el valor de la $p < 0.05$ (significación estadística) cuando la correlación es positiva y en verde cuando es negativa)

Tabla 19 (continuación). Correlación entre todos los parámetros séricos medidos en suero materno entre las gestantes con APP (casos) y controles (II).

Marcadores séricos		PCR	Leucocitos	GMCSF	IFNgamma	IL10	IL12	IL13	IL1beta	IL2	IL4	IL5	IL6	IL7	IL8	TNFalpha
IL4	Coef. Correl. (Rho)	-,028	,026	,400	,282	,015	,184	,271	,364	,373	1,000	,153	-,084	,055	-,065	,005
	Sig. (bilateral)	,756	,770	,000	,001	,870	,039	,002	,000	,000	.	,089	,352	,541	,468	,955
IL5	Coef. Correl.(Rho)	,036	-,028	,506	,231	-,043	,358	,585	,322	,275	,153	1,000	-,032	-,001	,012	-,031
	Sig. (bilateral)	,693	,759	,000	,010	,637	,000	,000	,000	,002	,089	.	,722	,991	,890	,730
IL6	Coef. Correl.(Rho)	,324	,077	-,249	,359	,705	,393	,082	,155	,298	-,084	-,032	1,000	,680	,681	,698*
	Sig. (bilateral)	,000	,391	,005	,000	,000	,000	,362	,085	,001	,352	,722	.	,000	,000	,000
IL7	Coef. Correl.(Rho)	,118	,010	-,256	,370	,672	,320	,149	,167	,327	,055	-,001	,680	1,000	,546	,605
	Sig. (bilateral)	,194	,915	,004	,000	,000	,000	,097	,063	,000	,541	,991	,000	.	,000	,000
IL8	Coef. Correl.(Rho)	,203	,144	-,113	,327	,619	,277	,020	,193	,206	-,065	,012	,681	,546	1,000	,555
	Sig. (bilateral)	,025	,110	,208	,000	,000	,002	,828	,031	,021	,468	,890	,000	,000	.	,000
TNFalpha	Coef. Correl.(Rho)	,276	,045	-,205	,274	,560	,368	,016	,082	,225	,005	-,031	,698	,605	,555	1,000
	Sig. (bilateral)	,002	,617	,022	,002	,000	,000	,859	,362	,012	,955	,730	,000	,000	,000	.

Coef.Correl.: coeficiente de correlación de Spearman (Rho); Sig: significación (=p).

V.2.2. Casos (APP)

Cuando consideramos estudiar sólo los casos (APP) se observó que la edad gestacional al parto se relacionó positivamente con la longitud cervical ($p < 0.001$; $\rho = +0.433$) e inversamente con el peso de la paciente en el momento de la inclusión en el estudio ($p = 0.021$; $\rho = -0.295$), los niveles de PCR ($p < 0.001$; $\rho = -0.469$), IL-6 ($p < 0.001$; $\rho = -0.552$), IL-7 ($p = 0.016$; $\rho = -0.307$), IL-8 ($p = 0.010$; $\rho = -0.0326$) y TNF-alfa ($p = 0.06$; $\rho = -0.350$). La PCR ($p = 0.001$; $\rho = -0.512$), IL-6 ($p = 0.001$; $\rho = -0.432$), IL-7 ($p = 0.025$; $\rho = -0.198$), IL-8 ($p = 0.015$; $\rho = -0.426$) y TNF-alfa ($p = 0.028$; $\rho = -0.358$) también se han relacionado inversamente con el peso fetal al nacimiento así como la PCR e IL-6 con una menor puntuación en el test de Apgar en el minuto uno y cinco ($p = 0.002$, $\rho = -0.588$ y $p = 0.017$, $\rho = -0.416$; respectivamente). La longitud cervical presentó una relación inversa con los niveles séricos de IL6 ($p < 0.001$, $\rho = -0.330$); IL-7 ($p = 0.025$; $\rho = -0.324$;) y TNF-alfa ($p = 0.011$, $\rho = -0.285$; $p = 0.026$). No se encontró relación entre los niveles séricos de leucocitos, PCR ni IL con la edad materna, IMC, peso, infección del tracto urinario, antecedente materno de PP anterior < 34 semanas, paridad, consumo de vitaminas durante el embarazo ni amenaza de aborto en el primer trimestre. El menor consumo de ácido fólico se relacionó con un mayor nivel de INF-gamma en sangre materna ($p = 0.046$), la infección materna por SGB con niveles séricos aumentados de PCR ($p = 0.019$) y el hábito tabáquico con niveles mayores de IL-1beta ($p = 0.010$). La gestantes que tuvieron metrorragia del segundo trimestre tuvieron niveles mayores de PCR ($p = 0.019$) e IL-6 ($p = 0.028$).

El nivel de leucocitos en sangre materna se correlacionó positivamente con los niveles de PCR e inversamente con los de IFN-gamma, IL-13 y IL-5 mientras que la PCR se relacionó positivamente con los niveles de IL-6, IL-8 y TNF-alfa. Las IL-6, 7, 8, 10, 12 y TNF-alfa se correlacionaron positivamente entre sí al igual que las IL-2, 4, 5, 13, 1beta, IFN-gamma y GM-CSF. El IFN-gamma se correlacionó positivamente también con las IL-6, 10, 12 y TNF-alfa; la IL-12 con las IL-2, 5, 13

y 1beta; la IL-6 con la IL-2 y la IL-7 con la IL-13. En la tabla 20 se muestran las correlaciones entre los diferentes marcadores séricos.

Tabla 20. Correlación entre todos los parámetros séricos medidos en suero materno en las gestantes con APP (casos) (I).

Marcadores séricos		PCR	Leucocitos	GMCSF	IFNgamma	IL10	IL12	IL13	IL1beta	IL2	IL4	IL5	IL6	IL7	IL8	TNFAlpha
PCR	Coef. Correl.(Rho)	1,000	,277	,000	-,021	,236	-,053	,206	,039	,092	-,110	,125	,481	,212	,278	,298
	Sig. (bilateral)	.	,036	,998	,873	,075	,694	,121	,772	,492	,411	,349	,000	,110	,034	,023
Leucocitos	Coef. Correl.(Rho)	,277	1,000	-,131	-,264	,110	-,199	-,302	-,133	-,138	-,022	-,269	,139	,107	,156	,092
	Sig. (bilateral)	,036	.	,314	,040	,399	,125	,018	,308	,288	,864	,036	,284	,412	,230	,479
GMCSF	Coef. Correl.(Rho)	,000	-,131	1,000	,377	-,087	,198	,308	,515	,528	,408	,461	-,149	-,174	-,034	,074
	Sig. (bilateral)	,998	,314	.	,003	,505	,125	,016	,000	,000	,001	,000	,253	,180	,794	,571
IFNgamma	Coef. Correl.(Rho)	-,021	-,264	,377	1,000	,276	,648	,456	,510	,547	,413	,385	,325	,250	,216	,263
	Sig. (bilateral)	,873	,040	,003	.	,031	,000	,000	,000	,000	,001	,002	,011	,052	,095	,041
IL10	Coef. Correl.(Rho)	,236	,110	-,087	,276	1,000	,405	,177	,104	,235	,092	,136	,604	,657	,432	,554
	Sig. (bilateral)	,075	,399	,505	,031	.	,001	,172	,424	,068	,481	,295	,000	,000	,001	,000
IL12	Coef. Correl.(Rho)	-,053	-,199	,198	,648	,405	1,000	,457	,365	,514	,132	,459	,450	,337	,225	,500
	Sig. (bilateral)	,694	,125	,125	,000	,001	.	,000	,004	,000	,309	,000	,000	,008	,081	,000
IL13	Coef. Correl.(Rho)	,206	-,302	,308	,456	,177	,457	1,000	,208	,342	,293	,621	,243	,255	,000	,157
	Sig. (bilateral)	,121	,018	,016	,000	,172	,000	.	,107	,007	,022	,000	,059	,048	,999	,226
IL1beta	Coef. Correl.(Rho)	,039	-,133	,515	,510	,104	,365	,208	1,000	,730	,314	,310	,169	,110	,113	,040
	Sig. (bilateral)	,772	,308	,000	,000	,424	,004	,107	.	,000	,014	,015	,192	,397	,385	,761
IL2	Coef. Correl.(Rho)	,092	-,138	,528	,547	,235	,514	,342	,732	1,000	,389	,425	,277	,107	,062	,250
	Sig. (bilateral)	,492	,288	,000	,000	,068	,000	,007	,000	.	,002	,001	,031	,413	,633	,052

Coef.Correl.: coeficiente de correlación de Spearman (Rho); Sig: significación (=p).

Tabla 20 (continuación). Correlación entre todos los parámetros séricos medidos en suero materno de las gestantes con APP (casos) (II).

Marcadores séricos		PCR	Leucocitos	GMCSF	IFNgamma	IL10	IL12	IL13	IL1beta	IL2	IL4	IL5	IL6	IL7	IL8	TNFalpha
IL4	Coef. Correl.(Rho)	-,110	-,022	,408	,413	,092	,132	,293	,314	,389	1,000	,179	-,040	,175	-,042	,080
	Sig. (bilateral)	,411	,864	,001	,001	,481	,309	,022	,014	,002	.	,169	,757	,178	,750	,538
IL5	Coef. Correl.(Rho)	,125	-,269	,461	,385	,136	,459	,621	,310	,425	,179	1,000	,173	,076	,077	,228
	Sig. (bilateral)	,349	,036	,000	,002	,295	,000	,000	,015	,001	,169	.	,184	,559	,556	,078
IL6	Coef. Correl.(Rho)	,481	,139	-,149	,325	,604	,450	,243	,169	,277	-,040	,173	1,000	,536	,560	,681
	Sig. (bilateral)	,000	,284	,253	,011	,000	,000	,059	,192	,031	,757	,184	.	,000	,000	,000
IL7	Coef. Correl.(Rho)	,212	,107	-,174	,250	,657	,337	,255	,110	,107	,175	,076	,536	1,000	,436	,544
	Sig. (bilateral)	,110	,412	,180	,052	,000	,008	,048	,397	,413	,178	,559	,000	.	,000	,000
IL8	Coef. Correl.(Rho)	,278	,156	-,034	,216	,432	,225	,000	,113	,062	-,042	,077	,560	,436	1,000	,478
	Sig. (bilateral)	,034	,230	,794	,095	,001	,081	,999	,385	,633	,750	,556	,000	,000	.	,000
TNFalpha	Coef. Correl.(Rho)	,298	,092	,074	,263	,554	,500	,157	,040	,250	,080	,228	,681	,544	,478	1,000
	Sig. (bilateral)	,023	,479	,571	,041	,000	,000	,226	,761	,052	,538	,078	,000	,000	,000	.

Coef.Correl.: coeficiente de correlación de Spearman (Rho); Sig: significación (=p).

V.2.3. Casos (APP) vs PDP

Comparando los casos con los PDP observamos que la edad gestacional al parto se relacionó positivamente con los niveles de GM-CSF en suero ($p=0.007$; $\rho: +0.279$) e inversamente con los niveles de PCR ($p=0.012$; $\rho: -0.272$), IL-6 ($p<0.001$; $\rho: -0.467$), IL-7 ($p=0.008$; $\rho:-0.276$), IL-8 ($p=0.004$; $\rho: -0.300$), IL-10 ($p=0.001$; $\rho: -0.346$) y TNF-alfa ($p=0.001$; $\rho: -0.332$). Las gestantes nulíparas presentaban menores niveles de GM-CSF en suero ($p=0.009$) y mayores de IL-10 ($p=0.043$). El hábito tabáquico se relacionó con niveles mayores en suero de IL-1beta ($p=0.014$), IL-2 ($p=0.011$) e IL-12 ($p=0.049$), al contrario que el consumo de ácido fólico preconcepcional el cual lo hizo con niveles menores de IL-1beta ($p=0.007$). Las gestantes que tuvieron metrorragia del segundo trimestre presentaron niveles mayores de PCR ($p=0.012$) e IL-6 ($p=0.015$). Las que tuvieron PP previo < 34 semanas tuvieron niveles superiores de PCR ($p=0.045$), IL-6 ($p=0.032$), IL-7 ($p=0.024$) y TNF-alfa ($p=0.005$). No se encontró ninguna relación entre los niveles de PCR, leucocitos y citoquinas en suero materno con la edad materna, IMC pregestacional, peso, ITU, infección por SGB, consumo de vitaminas durante el embarazo, longitud cervical ni antecedentes familiares de PP.

La PCR ($p<0.001$; $\rho:-0.399$), IL-6 ($p<0.001$; $\rho:-0.425$), IL-7 ($p=0.036$; $\rho:-0.231$), IL-8 ($p=0.005$; $\rho:-0.265$), IL-10 ($p=0.003$; $\rho:-0.412$) y TNF-alfa ($p=0.032$; $\rho:-0.354$) se relacionaron con menores pesos fetales al nacimiento y menor puntuación en el test de Apgar en el minuto uno ($p=0.005$, $\rho:-0.266$; $p=0.005$, $\rho:-0.314$; $p=0.026$, $\rho:-0.146$; $p=0.008$, $\rho:-0.215$; $p=0.014$, $\rho:-0.235$; $p=0.039$, $\rho:-0.288$); respectivamente); mientras que los leucocitos, PCR, IL-6 e IL-7 además también se asociaron a menor puntuación en el test de Apgar en el minuto cinco ($p=0.035$, $\rho:-0.388$; $p=0.005$, $\rho:-0.346$; $p=0.015$, $\rho:-0.259$; $p=0.029$, $\rho:-0.372$; respectivamente)

El nivel de leucocitos en sangre materna se correlacionó positivamente con el nivel de PCR e IL-13 mientras que la PCR se relacionó positivamente con los niveles de leucocitos e IL-6. Los niveles de IL-6, IL7, IL-8, IL-10 y TNF-alfa se correlacionaron todos positivamente entre sí y negativamente con los niveles de GM-CSF, a excepción del TNF-alfa el cual no se relacionó con el GM-CSF. Las IL-4, IL-5, IL-13, IFN-gamma y GM-CSF se correlacionaron positivamente entre sí al igual que la IL-1beta, IL-2 e IL-12. La IL-1beta se correlacionó positivamente también con la IL-5, IFN-gamma y el GM-CSF; la IL-2 también lo hizo con la IL-4, IL-5, IL-6, IFN-gamma y GM-CSF; y finalmente la IL-12 también se relacionó positivamente con la IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL-13, INF-gamma y TNF-alfa. En la tabla 21 se muestran las correlaciones entre los diferentes marcadores séricos.

Tabla 21. Correlación entre todos los parámetros séricos medidos en suero materno en las gestantes con APP (casos) y PDP (I).

Marcadores séricos		PCR	Leucocitos	GMCSF	IFNgamma	IL10	IL12	IL13	IL1beta	IL2	IL4	IL5	IL6	IL7	IL8	TNFalpha
PCR	Coef. Correl.(Rho)	1,000	,250	,042	-,014	,114	-,046	,157	,053	,107	-,073	,166	,289	,087	,171	,198
	Sig. (bilateral)	.	,021	,703	,895	,298	,677	,151	,629	,330	,509	,129	,007	,430	,117	,069
Leucocitos	Coef. Correl.(Rho)	,250	1,000	-,097	-,111	,090	-,125	-,222	-,105	-,086	-,057	-,149	,117	,086	,192	,066
	Sig. (bilateral)	,021	.	,356	,292	,395	,237	,033	,318	,416	,591	,155	,269	,413	,067	,533
GMCSF	Coef. Correl.(Rho)	,042	-,097	1,000	,223	-,385	,047	,348	,539	,470	,342	,532	-,302	-,375	-,218	-,199
	Sig. (bilateral)	,703	,356	.	,033	,000	,657	,001	,000	,000	,001	,000	,003	,000	,036	,057
IFNgamma	Coef. Correl.(Rho)	-,014	-,111	,223	1,000	,266	,569	,340	,431	,407	,341	,318	,239	,163	,166	,181
	Sig. (bilateral)	,895	,292	,033	.	,010	,000	,001	,000	,000	,001	,002	,022	,120	,114	,084
IL10	Coef. Correl.(Rho)	,114	,090	-,385	,266	1,000	,287	-,004	-,035	,103	,027	-,094	,663	,702	,533	,603
	Sig. (bilateral)	,298	,395	,000	,010	.	,006	,969	,739	,327	,795	,371	,000	,000	,000	,000
IL12	Coef. Correl.(Rho)	-,046	-,125	,047	,569	,287	1,000	,355	,263	,362	,019	,307	,321	,241	,109	,357
	Sig. (bilateral)	,677	,237	,657	,000	,006	.	,001	,011	,000	,855	,003	,002	,021	,300	,000
IL13	Coef. Correl.(Rho)	,157	-,222	,348	,340	-,004	,355	1,000	,146	,161	,310	,660	,017	,007	-,105	,007
	Sig. (bilateral)	,151	,033	,001	,001	,969	,001	.	,166	,126	,003	,000	,869	,950	,318	,948
IL1beta	Coef. Correl.(Rho)	,053	-,105	,539	,431	-,035	,263	,146	1,000	,762	,203	,244	,127	,034	,017	-,009
	Sig. (bilateral)	,629	,318	,000	,000	,739	,011	,166	.	,000	,052	,019	,226	,751	,870	,931
IL2	Coef. Correl.(Rho)	,107	-,086	,470	,407	,103	,362	,161	,762	1,000	,237	,258	,263	,082	,031	,175
	Sig. (bilateral)	,330	,416	,000	,000	,327	,000	,126	,000	.	,023	,013	,011	,438	,766	,094

Coef.Correl.: coeficiente de correlación de Spearman (Rho); Sig: significación (=p).

Tabla 21 (continuación). Correlación entre todos los parámetros séricos medidos en suero materno de las gestantes con APP (casos) y PDP (II).

	Marcadores séricos	PCR	Leucocitos	GMCSF	IFNgamma	IL10	IL12	IL13	IL1beta	IL2	IL4	IL5	IL6	IL7	IL8	TNFalfa
IL4	Coef. Correl.(Rho)	-,073	-,057	,342	,341	,027	,019	,310	,203	,237	1,000	,253	-,116	,032	,003	,013
	Sig. (bilateral)	,509	,591	,001	,001	,795	,855	,003	,052	,023	.	,015	,271	,761	,981	,900
IL5	Coef. Correl.(Rho)	,166	-,149	,532	,318	-,094	,307	,660	,244	,258	,253	1,000	-,110	-,192	-,080	-,036
	Sig. (bilateral)	,129	,155	,000	,002	,371	,003	,000	,019	,013	,015	.	,294	,067	,450	,731
IL6	Coef. Correl.(Rho)	,289	,117	-,302	,239	,663	,321	,017	,127	,263	-,116	-,110	1,000	,620	,566	,712
	Sig. (bilateral)	,007	,269	,003	,022	,000	,002	,869	,226	,011	,271	,294	.	,000	,000	,000
IL7	Coef. Correl.(Rho)	,087	,086	-,375	,163	,702	,241	,007	,034	,082	,032	-,192	,620	1,000	,471	,634
	Sig. (bilateral)	,430	,413	,000	,120	,000	,021	,950	,751	,438	,761	,067	,000	.	,000	,000
IL8	Coef. Correl.(Rho)	,171	,192	-,218	,166	,533	,109	-,105	,017	,031	,003	-,080	,566	,471	1,000	,478
	Sig. (bilateral)	,117	,067	,036	,114	,000	,300	,318	,870	,766	,981	,450	,000	,000	.	,000
TNFalfa	Coef. Correl.(Rho)	,198	,066	-,199	,181	,603	,357	,007	-,009	,175	,013	-,036	,712	,634	,478	1,000
	Sig. (bilateral)	,069	,533	,057	,084	,000	,000	,948	,931	,094	,900	,731	,000	,000	,000	.

Coef. Correl.: coeficiente de correlación de Spearman (Rho); Sig: significación (=p).

V.3. Análisis multivariante

V.3.1. Casos (APP) vs controles

El análisis descriptivo puso de manifiesto que el grupo de los casos presentaba una serie de diferencias significativas respecto a los controles: menor longitud cervical, menor edad materna, menor IMC pregestacional, menor peso al reclutamiento, menor consumo de ácido fólico, mayor número de abortos y mayor incidencia de metrorragia del segundo trimestre; así como unos niveles séricos mayores de leucocitos, PCR, IL-6, IL-8 e IL-10. Tras realizar el análisis multivariante (tabla 22) según una regresión logística considerando como variante dependiente la APP e incluyendo sólo las variables anteriormente citadas, la APP sólo se relacionó con una menor longitud cervical ($p < 0.001$; OR: 1.8; Intervalo de confianza al 95% 1.38-2.49) (R^2 :0.66; R^2 ajustada: 0.89).

Tabla 22. Regresión logística de casos y controles considerando APP como variable dependiente.

Se muestra sólo la variable con una $p < 0.05$.

APP	Coefficiente no estandarizado (B)	Error estándar	t	p	Intervalo de confianza al 95% para B	
LC	0.620	0.150	1	0.000	1.386	2.495
Constante	-16.100	3.756	1	0.000		

LC: longitud cervical

El modelo de regresión logística resultante de la combinación de los marcadores elegidos para la detección de APP en la población sería:

- Riesgo de APP = $-16.100 + 0.620 \times LC$

El análisis bivalente ha revelado que existen marcadores adecuados entre los elegidos en este estudio para ser utilizados con el fin de predecir la edad gestacional al parto. Se han analizado cada uno de esos marcadores (longitud cervical, IMC pregestacional, edad materna, PCR, IL-6,

IL-7, IL-8, IL-10, GM-CSF y TNF-alfa) siguiendo una regresión lineal múltiple (tabla 23) usando como variable dependiente la edad gestacional al parto. Tras el análisis se ha observado una relación directa entre edad gestacional al parto y longitud cervical así como una relación inversa entre edad gestacional y PCR, IL-6 y TNF-alfa (R^2 ajustado: 0.50; $p < 0.001$).

Tabla 23. Análisis de la eficacia diagnóstica de cada uno de los marcadores con significación estadística empleados para la predicción del PP según la edad gestacional al parto en la población de casos y controles.

EG al parto	Coficiente no estandarizado (B)	Error estándar	t	p	Intervalo de confianza al 95% para B	
Constante	33.36	0.81	41.00	0.000	31.745	34.967
LC	0.18	0.02	7.96	<0.001	0.138	0.230
PCR	-0.51	0.15	-3.27	<0.001	-0.823	-0.202
IL-6	-0.01	0.00	-1.78	0.078	-0.011	0.000
TNF- α	-0.08	0.03	-2.08	0.040	-0.158	-0.003

LC: longitud cervical

Tras el análisis de las variables estudiadas se obtuvo la siguiente fórmula para poder predecir la edad gestacional de parto en nuestra población:

- EG de parto: $33.36 - 0.51 \times \text{PCR} + 0.18 \times \text{longitud cervical} - 0.01 \times \text{IL-6} - 0.08 \times \text{TNF-alfa}$

V.3.2. Sólo grupo de casos (APP)

En el análisis de regresión logística (tabla 24) considerando el PP (< 37 semanas) como variable dependiente e incluyendo las variables que mostraron diferencias significativas en el estudio descriptivo (peso, longitud cervical, tensión arterial diastólica, niveles séricos de leucocitos, PCR, IL-6, IL-7, IL-8, TNF-alfa y GM-CSF), el PP sólo se relacionó con una menor longitud cervical ($p=0.009$) y un mayor nivel de IL-6 ($p=0.032$) (OR: 1.6; Intervalo de confianza al 95% 1.18-2.29) ($R^2:0.44$; R^2 ajustada: 0.66).

Tabla 24. Regresión logística de casos considerando PP como variable dependiente. Se muestran sólo las variables con una $p < 0.05$.

PP	Coefficiente no estandarizado (B)	Error estándar	t	p	Intervalo de confianza al 95% para B	
LC	0.154	0.058	1.164	0.009	1.039	1.305
IL-6	-0.055	0.026	0.946	0.032	0.899	0.995
Constante	-1.901	5.291	1	0.004		

LC: longitud cervical

El modelo de regresión logística resultante de la combinación de los marcadores elegidos para la detección de PP en los casos de APP es:

- Riesgo de PP = $-1.901 + 0.154 \times LC - 0.055 \times IL-6$

Tras el análisis de regresión lineal múltiple (tabla 25) empleando las variables relacionadas con la edad gestacional al parto en el análisis bivariante se ha observado una relación directa entre edad gestacional al parto y longitud cervical así como una relación inversa entre edad gestacional y PCR e IL-6 (R^2 ajustado: 0.40; $p < 0.001$).

Tabla 25. Análisis de la eficacia diagnóstica de cada uno de los marcadores con significación estadística empleados para la predicción del PP según la edad gestacional al parto en la población de casos (APP)

EG al parto	Coefficiente no estandarizado (B)	Error estándar	t	p	Intervalo de confianza al 95% para B	
Constante	33.48	1.44	23.26	0.000	30.594	36.365
LC	0.16	0.07	2.20	0.032	0.013	0.297
PCR	-0.73	0.24	-2.96	0.005	-1.223	-0.234
IL-6	-0.01	0.00	-2.9	0.005	-0.023	-0.004

LC: longitud cervical

Tras el análisis de las variables estudiadas se obtuvo la siguiente fórmula para poder predecir la edad gestacional de parto en las pacientes que se encuentran en trabajo de PP:

- EG de parto: $33.48 - 0.73 \times \text{PCR} + 0.16 \times \text{longitud cervical} - 0.01 \times \text{IL-6}$

V.3.3. Casos vs PDP

El análisis multivariante considerando como variable dependiente la APP e introduciendo las variables que mostraron diferencias significativas en el estudio descriptivo (edad materna, peso, IMC pregestacional, nuliparidad, antecedentes familiares de PP, infección del tracto urinario, metrorragia del segundo trimestre, tensión arterial diastólica, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, TNF-alfa y GM-CSF) no demostró ninguna relación entre la APP y las variables consideradas en el estudio.

El análisis de regresión lineal (tabla 26) empleando como variable dependiente la edad gestacional al parto desveló una relación inversa entre edad gestacional al parto y PCR e IL-6 (R^2 ajustado: 0.38; $p < 0.001$).

Tabla 26. Análisis de la eficacia diagnóstica de cada uno de los marcadores con significación estadística empleados para la predicción del PP según la edad gestacional al parto en la población de casos y PDP.

EG al parto	Coefficiente no estandarizado (B)	Error estándar	t	p	Intervalo de confianza al 95% para B	
Constante	37.61	0.435	86.473	0,000	36.745	38.475
PCR	-0.954	0.225	-4.232	0.000	-1.403	-0.506
IL-6	-0.019	0.005	-2.080	0.000	-0.028	-0.010

La fórmula obtenida fue la siguiente:

- EG de parto: $37.61 - 0.95 \times \text{PCR} - 0.019 \times \text{IL-6}$

VI. Discusión

El presente estudio ha puesto de manifiesto la importancia de la longitud cervical y la IL-6 como factores de riesgo de PP entre aquellas gestantes con APP y además nos ha permitido establecer una fórmula para predecir la edad gestacional al parto tanto en la población general como entre aquellas gestantes con trabajo de PP.

VI.1. Características maternas y parto prematuro

Al comparar los casos (APP) con los controles y con los PDP vemos como éstos presentan una menor edad materna, lo que está en consonancia con muchos estudios previamente publicados al respecto^{171,173}. Sin embargo cuando comparamos los casos con PP < 34 semanas frente a los controles la edad materna desaparece como variable diferencial, lo cual es confirmado en el análisis multivariante final donde no se encontró relación ninguna entre APP y edad materna, revelando su papel como variable confusora. El efecto de la edad sobre el PP ha sido estudiado en numerosas publicaciones, sin embargo, y aunque el PP se ha relacionado en muchos de ellos con edades extremas^{360,361}, lo cierto es que el efecto aislado de la edad materna sobre el PP no ha sido esclarecido del todo y la mayor parte de los estudios consideran que la edad materna se encuentra influenciada por factores tanto genéticos como ambientales: la raza¹⁷¹, el nivel educacional³⁶¹, el nivel socioeconómico¹⁶⁸, etc. Un estudio llevado a cabo en los Estados Unidos mostró como las adolescentes embarazadas, la mayoría multíparas, presentaban una mayor tasa de PP independientemente de su raza (blanca, negra o hispánica). Sin embargo también había matices según la edad gestacional al parto pues las gestantes blancas no hispánicas de menos de 18 años presentaron una mayor tasa de PP extremo y muy prematuro, mientras que las multíparas añosas de más de 35 años de raza negra e hispánica presentaron una mayor tasa de PP moderado y muy prematuro¹⁷². Nuestro estudio mostró una correlación positiva entre la edad materna y el IMC pregestacional ($p=0.04$; $\rho: +0.217$), el peso ($p=0.017$; $\rho: +0.213$) y la paridad ($p=0.036$; $\rho: +0.188$) tanto en el grupo de casos-contróles como en el de casos-PDP,

mientras que en el análisis estratificado considerando sólo el grupo con APP la edad materna sólo se relacionó positivamente con el peso materno ($p=0.007$; $\rho: +0.196$). Nuestro estudio no recoge ninguna paciente de raza negra por lo que ante la falta de diversidad racial no se consiguió establecer ninguna relación entre la edad gestacional al parto, la edad materna y la raza.

Es bien conocida la interacción entre la edad materna y la paridad en el riesgo de PP, siendo las jóvenes (< 18 años) multíparas y las primíparas añosas (> 35 años) las que presentan un mayor riesgo de PP y resultados perinatales adversos. En el caso de las adolescentes es explicado por periodos intergenésicos cortos y las condiciones socioeconómicas mientras que en el caso de las añosas debido al empleo de las técnicas de reproducción asistida y a una mayor comorbilidad asociada¹⁷². Nuestro estudio mostró, como hemos comentado anteriormente, que los casos presentaban una menor edad que los controles emparejados por edad gestacional y que los PDP; sin embargo no hubo diferencias en la paridad cuando las comparamos con los controles emparejados por edad gestacional y si una mayor tasa de nuliparidad cuando las comparamos con los PDP. Todas las adolescentes menores o igual a 18 años (10 en total en nuestro estudio) pertenecieron al grupo de los casos y todas fueron nulíparas, lo cual es entendible desde el punto de vista epidemiológico, ya que al ser más jóvenes es más probable que no hayan tenido hijos anteriormente. El número de pacientes añosas (> 35 años) entre el grupo de casos y controles fue similar (18% vs 17%) mientras que en el grupo de los PDP fue de un 25%, esto explica la diferencia hallada en la paridad, ya que al tener mayor edad también es más probable que hayan tenido más hijos.

El IMC pregestacional y el peso al inicio del estudio han sido otros de los factores diferenciales entre los distintos grupos del estudio. En un primer análisis la APP se asoció con un menor IMC pregestacional y menor peso que los dos grupos control (gestantes emparejadas por edad gestacional sin contracciones y gestantes con PDP). Sin embargo, al estratificar a las pacientes

con APP según la edad gestacional en el momento del parto, encontramos que las pacientes con parto antes de la semana 37 de gestación presentaban un peso mayor que las que tenían un parto a término (también presentaron un IMC pregestacional ligeramente superior aunque la diferencia no resultó significativa). Esta discrepancia podría ser explicada por el hallazgo de Cottrill y colaboradores³⁶² de que las mujeres con mayor IMC presentan una menor percepción de las contracciones. De tal manera que las pacientes que acuden con síntomas de APP son aquellas que presentan un menor IMC, sin embargo, no son éstas las que luego presentan PP. Esto podría explicar las diferencias halladas cuando comparamos el grupo de APP frente a los controles y las que tuvieron PP frente a las que no. En este caso el IMC actuaría como factor confusor, haciéndonos pensar en primera instancia que se podría tratar de un factor de riesgo para PP, ya que serían las gestantes con menor IMC las que más percibirían las contracciones y acudirían por urgencias para ser clasificadas como APP; sin embargo, nuestro estudio finalmente no ha demostrado relación del IMC con el PP en el grupo de APP ni en el análisis final multivariante. Aunque algunos estudios relacionan un bajo ($< 18.5 \text{ kg/m}^2$) o alto ($>30 \text{ kg/m}^2$) IMC pregestacional con mayor riesgo de PP³⁶³, lo cierto es que la mayoría no han llegado a un acuerdo sobre la relación existente entre el IMC materno previo a la gestación y el riesgo de sufrir un PP¹⁷⁷ ya que parece ser que dicha relación varía en función de las características de la paciente y del tipo de PP ante el que nos encontremos^{364,365}. Entre las características maternas nos encontramos la edad materna, la raza y la paridad³⁶⁵, mientras que el trabajo de parto que ocurre de forma espontánea parece relacionarse con un IMC pregestacional bajo, el que ocurre por indicación médica se relaciona con un IMC elevado debido a la comorbilidad que conlleva³⁶⁴. Diversos estudios parecen demostrar que el PP espontáneo es más frecuente entre mujeres de raza negra con un bajo IMC y el parto prematuro extremo (menor a 28 semanas) espontáneo entre mujeres obesas de raza blanca no hispánica^{171,363,365}. Nuestro estudio reveló una correlación positiva entre el IMC pregestacional, edad materna ($p=0.007$; $\rho: +0.196$), paridad

($p=0.040$; $\rho: +0.176$) y peso en el momento de la inclusión en el estudio ($p<0.001$; $\rho: +0.819$), siendo incluso los resultados más significativos en el análisis comparativo de casos-PDP. Sin embargo en el subanálisis realizado considerando sólo los casos (APP) el IMC tan sólo se correlacionó con el peso materno. No encontramos ninguna correlación entre el IMC y la raza, ni entre IMC y PP espontáneo en nuestro estudio.

El menor consumo de ácido fólico detectado entre los casos respecto a los controles fue descartado posteriormente al realizar un subanálisis considerando sólo aquellos casos con PP < 34 semanas. Esto entra en consonancia con un metaanálisis reciente donde no se pudo comprobar la relación entre el consumo de ácido fólico preconcepcional con una menor incidencia de PP, mayor peso fetal al nacimiento ni menor incidencia de muerte fetal³⁶⁶.

El número de abortos previos fue mayor en el grupo de los casos que en los controles. Clásicamente esto ha sido explicado por una mayor debilidad del cérvix tras el tratamiento quirúrgico del aborto, sin embargo la fuerza de la asociación entre el aborto previo y el PP ha ido disminuyendo con el paso de los años dada la mayor tendencia al tratamiento médico y, por tanto, menos agresivo del aborto³⁶⁷. Un reciente estudio publicado en el año 2015 realizado en Escocia entre el año 1980 y 2008³⁶⁸ confirma cómo un solo antecedente de aborto ya supone un incremento del riesgo de PP a cualquier edad gestacional (OR 1.24), pero además, muestra como dicho riesgo va incrementando a medida que aumentan el número de abortos, de tal manera que aquellas mujeres con antecedentes de 3 ó más abortos son las que presentan un mayor riesgo de PP a cualquier edad gestacional (OR 2.14) pero sobre todo mayor riesgo de PP extremo (OR. 3.87). Estos hallazgos han sido posteriormente confirmados por un reciente metaanálisis publicado en el año 2016¹⁵⁹, donde a pesar de reconocer la ausencia de estudios controlados y aleatorizados que comparen mujeres que tuvieron tratamiento quirúrgico del aborto con aquellas que no lo tuvieron, el tratamiento quirúrgico del mismo continúa asociándose a un mayor riesgo de PP y por tanto debemos considerarlo hoy día como un factor de riesgo más.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio tampoco pudieron relacionar la infección del tracto urinario con el PP. En el análisis bivariante los casos presentaron una mayor tasa de infección del tracto urinario frente a los PDP, que luego no se pudo confirmar al realizar un subanálisis considerando como casos sólo a aquellas que tuvieron PP <34 semanas frente a los PDP ni en el análisis multivariante considerando como variable dependiente la APP. Esto concuerda con los estudios que refutan el papel de la bacteriuria asintomática como causante del PP²⁰⁴ pero sí que existe controversia en cuanto a no tratarla dada su relación con la pielonefritis, la cual puede explicar su relación con el PP en algunos análisis²⁰⁵.

La hemorragia genital anteparto ha sido considerada factor de riesgo para PP por algunos estudios, especialmente cuando no se ha tratado de un evento aislado^{214,369,370}. Sin embargo, la mayoría de los estudios no han mostrado su asociación con el PP tras el ajuste por factores de confusión lo cual nos indica que probablemente no se trate de un factor causal sino que podría tratarse de una consecuencia en las mujeres que tienen o van a tener una APP³⁷¹. Esto viene a apoyar nuestros resultados, donde se mostró un aumento de la metrorragia del segundo trimestre en los casos respecto a los controles emparejados por edad gestacional y los PDP, sin embargo en el análisis multivariante final no encontró relación entre la APP y la metrorragia del segundo trimestre.

No está demasiado claro el papel de la herencia familiar en el PP. En nuestro estudio los casos presentaron mayores tasas de antecedentes de prematuridad en familiares de 1º grado que las gestantes con PDP, pero esto no se demostró al comparar casos con controles. Hasta el momento sólo se han reportado mayores índices de prematuridad entre las gestantes que también nacieron pretérmino dado que se conoce que éstas presentan una mayor incidencia de hipertensión gestacional, preeclampsia y diabetes gestacional²¹⁶, sin embargo esto no ha sido apoyado por otros estudios²¹⁵. Cada vez se está hallando un mayor número de alteraciones y polimorfismos genéticos relacionados con alteraciones en las citoquinas encargadas de la

respuesta inflamatoria^{211,225}. Se ha visto que éstas alteraciones se relacionan con algunas razas como la afroamericana²¹⁷, y por tanto, aunque aún no ha sido demostrado, podrían mostrar también una tendencia familiar al PP que podría explicar, por ejemplo, el mayor riesgo de tener un PP cuando una hermana mayor lo ha presentado²¹⁵.

En conclusión, nuestro estudio no ha podido demostrar la relación entre ninguno de los factores de riesgo maternos y el PP (o la APP), lo que es compatible con otros estudios³⁷¹. A pesar de que el análisis bivariante mostró inicialmente una posible relación entre la APP y varios factores de riesgo, el ajuste por factores de confusión realizado mediante el análisis multivariante puso de manifiesto la posible interrelación de las distintas variables demostrando que ninguna de ellas presenta un efecto único e independiente sobre la variable dependiente (APP, PP o edad gestacional al parto).

VI.2. Longitud cervical y parto prematuro

El papel de la cervicometría continúa siendo indudable en el diagnóstico de PP y así lo ha confirmado nuestro estudio^{60,61}. La longitud cervical se comporta como un marcador independiente de riesgo de PP y en la actualidad se trata de la prueba individual que mejor predice el riesgo de PP³⁷¹⁻³⁷⁴. En cualquier caso, ya sea comparando todas las APP frente a los controles o las APP que tuvieron PP < 37 semanas frente a término, todos los casos presentaron menor longitud cervical que el grupo control, además con una alta significación ($p < 0.001$). El hecho de que los casos con PP < 37 semanas presenten una menor longitud cervical que los controles que también presentaron PP < 37 semanas tiene una fácil explicación: los controles no tuvieron PP con trabajo de parto espontáneo sino que presentaron RPM pretérmino y el parto tuvo que ser inducido médicamente. Al estratificar los casos según edad gestacional a la inclusión en el estudio pudimos comprobar que al igual que se describe en la literatura^{56,57} las gestantes por encima de las 32 semanas presentaban una menor longitud cervical, así como

cuando estratificamos según edad gestacional al parto por debajo o por encima de las 32 semanas, sin embargo en ambos casos las diferencias no resultaron significativas. La literatura recoge diferentes puntos de corte de cervicometría según la edad gestacional, lo cual depende de la sensibilidad y especificidad que pretendamos alcanzar. El estudio mostró como las gestantes que tenían PP < 32 semanas presentaban un cérvix menor que las que estando de la misma edad gestacional no lo tenían. De la misma forma se mostró que estas diferencias también eran significativas cuando consideramos las gestantes con más de 32 semanas que presentaban PP o no. Esto no hace más que apoyar la teoría de que no es posible establecer un punto de corte universal de cervicometría para predecir el PP sino que es necesario utilizar distintos según la edad gestacional de la paciente, teniendo en cuenta que el cérvix se va acortando de manera fisiológica a partir de las 30-32 semanas de gestación^{19,46}. La longitud cervical también nos permite predecir el tiempo hasta el parto. Cuando comparamos las gestantes que tuvieron PP pudimos observar como aquellas que tuvieron PP en la primera semana tras el diagnóstico presentaban menor longitud cervical que las que lo tuvieron pasado la primera semana. Esta diferencia fue especialmente significativa cuando consideramos las gestantes con PP > 32 semanas.

VI.3. Citoquinas y parto prematuro

Los casos presentaron niveles más elevados de leucocitos y PCR en sangre materna (sinergismo positivo) en comparación con los controles emparejados por edad gestacional, lo cual se confirmó al comparar los casos con PP menor de 34 semanas respecto a los controles así como cuando comparamos los casos que tuvieron PP respecto a los que no lo tuvieron (APP con PP < 37 semanas vs > 37 semanas). A pesar de que algunos estudios han encontrado relación de la PCR con la paridad y el IMC pregestacional nuestro estudio no mostró ningún tipo de relación^{124,375}. La PCR es una proteína de fase aguda producida principalmente en los hepatocitos

en respuesta a la IL-6 e IL-1beta¹²³, en nuestro estudio pudimos comprobar como los niveles de PCR se correlacionaron positivamente con los de la IL-6, aunque también con los de la IL-8 y TNF-alfa. Clásicamente los niveles de PCR siempre han estado ligados a la presencia de infección intrauterina (corioamnionitis)^{125,128}, sin embargo, Hvilsom y colaboradores¹³¹, en el año 2002, ya mostraron como gestantes asintomáticas con niveles aumentados de PCR en suero materno a comienzos del segundo trimestre presentaban un incremento en el doble del riesgo de sufrir un PP en ausencia de infección. Esto dejaba entrever que no era necesariamente la presencia de infección lo que provocaba la elevación de los niveles de PCR y, por tanto, el PP; sino que, por causas aún no bien conocidas, en aquellas gestantes con PP se creaba un ambiente inflamatorio capaz de ser detectado semanas antes de que ocurriera el evento. Este hallazgo fue posteriormente confirmado por otros autores como Pitiphat en 2005¹³³, Lohsoonthorn en 2007¹³⁶, Sorokin en 2010⁹¹, Moghaddam Banaem en 2012¹³⁷, Halder en 2013¹³⁹ y Devyani en 2015¹³⁸. En la última década la mayoría de los estudios realizados en gestantes con APP sin signos clínicos de infección intrauterina muestran una elevación de los niveles séricos de PCR comparados con gestantes sanas sin síntomas de APP^{132,134,376}, lo cual apoyaría los resultados obtenidos en nuestro estudio. Por otro lado, el papel de la leucocitosis en las gestantes con APP no ha sido apoyado por la mayoría de los estudios^{333,377}, esto puede deberse al hecho de que al comenzar el mecanismo del parto los leucocitos sufren una activación y migración desde la sangre periférica hasta los tejidos materno-fetales (cérvix, placenta, decidua, membranas fetales y líquido amniótico), la cual está mediada por las IL-1, IL-6, IL-8 y TNF-alfa³⁷⁸.

De igual forma se encontraron niveles más elevados de IL-6, IL-8 e IL-10 en los casos (y casos con PP inferior a 34 semanas) respecto a los controles. La IL-6 es en la actualidad la citoquina proinflamatoria por excelencia más relacionada con el PP en los diferentes compartimentos biológicos (secreción vaginal, líquido amniótico y suero materno)^{302,303,379}. Es ya conocido que la IL-6 activa la producción de linfocitos a nivel uterino, aumentando además la producción de

prostaglandinas y receptores de oxitocina mediante la activación del eje HHS. Este hallazgo apoya otros estudios que también encuentran niveles aumentados de IL-6 aún en ausencia de infección intrauterina¹⁴¹. Según diferentes estudios la producción de IL-6 estimula la producción de PCR, y en consecuencia ambas presentan una correlación positiva, al igual que ocurre con la IL-8³³². La IL-8 se encarga de atraer a linfocitos hacia el cérvix induciendo cambios en su consistencia y longitud e incrementando el riesgo de RPM. Estos efectos son conseguidos gracias a que promueve la síntesis de IL-1beta e IL-6 en una gran variedad de células y además activa la serie blanca celular para producir MMP y prostaglandinas, responsables del cambio cervical y la RPM. La IL-10 es considerada la principal citoquina antiinflamatoria y se encuentra elevada en todos los procesos que implican un aumento de las citoquinas proinflamatorias tales como la IL-6, 8, 12, TNF-alfa, etc; de ahí su relación con el PP²³⁷. Su función principal consiste en suprimir la acción de dichas citoquinas, así como inhibir la acción de los macrófagos y la producción de prostaglandinas. Minckwitz y colaboradores³³² fueron de los primeros en encontrar un aumento de las IL-6 e IL-8 en el suero de gestantes con APP comparada con controles, aunque en su estudio incluyeron gestantes con RPM; posteriormente Torbé y colaboradores³⁸⁰ describieron un aumento de los niveles de IL-1beta e IL-6 en aquellas gestantes con APP comparadas con controles emparejados por edad gestacional; Tsiartas y colaboradores²³⁷ relacionaron el PP con niveles aumentados de IL-10 y TNF-alfa, sin embargo el análisis multivariante final sólo lo relacionó con la IL-10. A diferencia de estos estudios otros no hallaron diferencias entre los niveles séricos de citoquinas y el PP: Bahar en 2003³³⁵, Isik en 2013³³³ y Tency y colaboradores en 2014³⁸¹.

Nuestro estudio no mostró ninguna relación entre la IL-1beta y el PP así como ni siquiera una correlación entre los niveles séricos de IL-1beta y los de IL-6 e IL-8. Esto difiere con algunos estudios publicados hasta la fecha que relacionan la IL-1beta con el PP^{327,380} y apoyan un sinergismo entre la IL-1beta y la IL-6 que se explicaría mediante la estimulación de la producción

de IL-6 por parte de la IL-1beta. La IL-1beta fue la primera citoquina relacionada con el PP en presencia de infección³⁸² y sus niveles se han visto aumentados tanto en el parto a término como pretérmino²⁹⁶, demostrándose además como su administración exógena provoca PP en ratones gestantes³⁸³. Se han hallado niveles aumentados de IL-1beta, forma activa de la IL-1, en el cérvix, miometrio, líquido amniótico y sangre de gestantes con PP²⁹⁷.

Al comparar los casos que realmente tuvieron PP por debajo de las 34 semanas frente a los controles se pudo observar, además de la elevación de todas las citoquinas anteriormente citadas, una elevación de la IL-7 y TNF-alfa así como una disminución en los niveles de GM-CSF, lo cual coincide con los hallazgos obtenidos al comparar los casos con los PDP. Hasta ahora el GM-CSF no se había relacionado con el PP³⁴⁷, siendo tan sólo encontrado en mayores cantidades en el suero de gestantes con antecedentes de PP anterior inferior a 32 semanas³⁵⁰. El GM-CSF se trata de una glicoproteína con un papel esencial en la regulación de la respuesta inmune y homeostasis tisular por lo que la presencia de niveles disminuidos nos ponen en alerta de un déficit de regulación de la respuesta inmune, y en consecuencia, de un desenlace a favor de la inflamación que desencadena el PP. La IL-7 ha sido una citoquina muy poco estudiada en relación con el PP³⁸¹, no encontrándose relación con el mismo; al igual que el TNF-alfa, el cual no se ha relacionado tampoco con el PP en la mayoría de las publicaciones^{340,347}, aunque sí que se ha encontrado elevado en el suero de gestantes en el segundo trimestre con antecedente de PP previo³⁴³ y sin antecedentes en presencia de infección intraamniótica²⁹³. El TNF-alfa presenta una función similar a la IL-8 promoviendo la activación de macrófagos y linfocitos e incrementado la síntesis de MMP y otras sustancias degradantes del colágeno. Además promueve la secreción de otras citoquinas proinflamatorias y la síntesis de prostaglandinas, lo que conduce a la RPM y progresión del trabajo de parto. En nuestro estudio el TNF-alfa ha mostrado una correlación positiva con los niveles en suero materno de PCR, IL-6, IL-7, IL-8 e IL-10.

En la comparativa con los PDP el grupo de los casos también presentó una elevación significativa de las citoquinas 6, 7, 8, 10, TNF-alfa y una disminución de la GM-CSF (al igual que cuando comparamos los casos con PP menor a 34 semanas respecto a los controles), sin embargo, es importante recalcar que no se observaron diferencias en los niveles de leucocitos y PCR. Esto nos pone de manifiesto que probablemente, y a pesar de que en ambos tipos de partos se establece un ambiente inflamatorio, los mecanismos moleculares que desencadenan un PP y un parto a término son diferentes, inclinándose la balanza a favor de la producción de citoquinas proinflamatorias en el caso del PP.

De todas las citoquinas relacionadas con el PP anteriormente citadas, sólo la PCR y la IL-6 se relacionaron, en todos los modelos de estudio, con una menor puntuación en el test de Apgar al minuto uno y cinco. Esto concuerda con los resultados obtenidos en el análisis multivariante dado que estos dos marcadores séricos son los que se han relacionado, junto con la longitud cervical, con la edad gestacional al parto, siendo ésta menor cuanto más elevados se presentan estos marcadores. Cuando comparamos casos frente a controles emparejados por edad gestacional encontramos como la longitud cervical se relacionó inversamente con los niveles de leucocitos, PCR, IL-6 y TNF-alfa y positivamente con los niveles de GM-CSF; en cambio cuando analizamos el grupo de APP, la longitud cervical sólo se relacionó inversamente con los niveles de IL-6, IL-7 y TNF-alfa. La infección vaginal por SGB se relacionó con niveles mayores de PCR, IL-6, IL-7, IL-10 e IFN-gamma en el grupo caso-control emparejado por edad gestacional, sin embargo sólo mostró relación con niveles aumentados de PCR en el grupo de los casos mientras que no hubo diferencias cuando comparamos casos frente a PDP. No existe ningún estudio publicado que relacione la infección vaginal por SGB en madres gestantes con las citoquinas séricas, tan sólo podemos encontrar en la literatura algunas controversias acerca de la asociación de la vaginosis bacteriana y el PP, siendo varios los estudios que encuentran una asociación³⁸⁴ mientras que otros no consideran que su mera presencia por sí sola sea capaz de

explicar el PP³⁸⁵. El hábito tabáquico se relacionó con niveles aumentados de IL-1beta en los 3 modelos de estudio (casos frente a controles; casos con PP < 37 semanas frente a casos con PP > 37 semanas; casos frente a PDP). Arnson y colaboradores, en una revisión publicada en el año 2010³⁸⁶, apoyan el papel del tabaco en la desregulación del sistema inmune innato y adaptativo, dando lugar a un incremento en las citoquinas 1, 6, 8 y TNF-alfa. Otro estudio más reciente del año 2016³⁸⁷ encontró un aumento de las citoquinas 1, 6, 8, 10, 12 y TNF-alfa entre personas fumadoras que persistían elevadas hasta 4 meses después del cese del hábito tabáquico. El antecedente de PP previo se relacionó con niveles aumentados de PCR cuando comparamos los casos frente a los controles emparejados por edad gestacional y con PDP. El aumento de la PCR en aquellas gestantes que han tenido un PP anterior ha sido ya reportado por otros estudios⁹¹, siendo considerado además factor de riesgo para PP en gestantes asintomáticas^{131,133,136,138}. La metrorragia del segundo trimestre también se relacionó con niveles superiores de PCR e IL-6 en los tres modelos de estudio, lo cual era de esperar teniendo en cuenta que ya nos aparecía como variable diferencial en los casos respecto a los controles y PDP.

VI.4. Predicción del riesgo de parto pretérmino

El análisis final multivariante considerando factores de riesgo maternos, longitud cervical y marcadores bioquímicos en suero materno, puso en relieve el nulo valor de los factores de riesgo así como de las citoquinas en suero materno para predecir el PP en la población general (casos frente a controles emparejados por edad gestacional), relacionándose sólo la longitud cervical con la APP. Estos resultados concuerdan con recientes estudios, los cuales no encuentran relación entre los niveles de citoquinas en suero materno con el PP^{333,334,381}. Al considerar sólo las pacientes con APP la regresión logística puso de manifiesto un mayor riesgo de PP entre aquellas que presentaban mayores niveles de IL-6 en suero materno junto con una menor longitud cervical. En las últimas dos décadas ha quedado demostrado que la longitud cervical

medida mediante ecografía transvaginal es un efectivo predictor del PP, siendo considerado un cérvix largo y, por tanto, de bajo riesgo para el PP aquel cuya medida sea superior a 30 mm^{46,62,68,242}.

Un reciente metaanálisis de 2017 llevado a cabo por Berghella y colaboradores vuelve a confirmar la importancia de la longitud cervical en la predicción del PP, pero además también resalta su papel en la prevención, encontrando una asociación significativa entre la longitud cervical obtenida mediante ecografía transvaginal y una menor incidencia de PP y edad gestacional más tardía en el momento del parto³⁸⁸.

Por otro lado el análisis bivalente nos puso de manifiesto la relación entre la edad gestacional al parto y algunas de las variables incluidas en el estudio, lo que nos ha permitido obtener dos fórmulas capaces de predecir la edad gestacional al parto en la población general así como entre aquellas gestantes que presentan síntomas de APP. Esta fórmula incluye, además de una menor longitud cervical, unos niveles aumentados de PCR e IL-6, tanto en la población general como en el grupo de gestantes con APP, incluyendo además el TNF-alfa como valor predictor de la edad gestacional al parto en la población general.

No existen demasiados estudios que hayan estudiado los niveles de citoquinas en suero materno en gestantes con síntomas de APP. En el año 2000 Minckwitz y colaboradores fueron los primeros en relacionar un aumento de la IL-6 y 8 en el suero de gestantes con APP (n=72) comparado con controles emparejados por edad gestacional (n=24), aunque en su caso las gestantes con APP incluyeron gestantes con RPM³³². Álvarez de la Rosa y colaboradores (APP=49; controles=35), en ese mismo año, también mostraron como aumentos en los niveles de IL-6 e IL-2R servían para predecir el fallo en el tratamiento tocolítico, dando lugar a un aumento de riesgo de PP por debajo de las 34 semanas en las próximas 48 horas al diagnóstico de APP²⁹⁵. Este hallazgo ha sido posteriormente apoyado por un reciente estudio del año 2014¹²⁷

donde se muestra que, además de la IL-6, niveles elevados de IL-8 y PCR se relacionan con el fallo en el tratamiento tocolítico (APP=75). En un estudio llevado a cabo por Torbé y colaboradores y publicado en el año 2007 se relaciona la APP (n=65) con niveles aumentados de IL-1beta e IL-6 en el suero de gestantes con membranas íntegras³⁸⁰ comparados con los controles (n=31). En el año 2008 Ekelund y colaboradores compararon los niveles de IL-12 y 18 en el suero de gestantes con APP (n=93) y sólo encontraron relación entre niveles disminuídos de IL-18 y el PP inferior a 34 semanas. Tsiartas y colaboradores en el año 2012 estudiaron los niveles de hasta 27 marcadores séricos (incluyendo todas las citoquinas presentes en nuestro estudio) en el suero de gestantes con APP (n=142) y relacionaron el PP que se produce en la primera semana tras el diagnóstico con niveles aumentados de IL-10 y TNF-alfa, sin embargo el modelo predictor final que describieron tan sólo incluyó la IL-10 junto con el RANTES y la longitud cervical²³⁷. Por otro lado, también son varios los estudios llevados a cabo en el suero de gestantes con APP que no demuestran relación ninguna entre el PP y los niveles de citoquinas cuando se compara con controles emparejados por edad gestacional, lo cual entra en consonancia con nuestro estudio. Bahar y colaboradores en el año 2003 no encontraron ninguna diferencia entre los niveles de IL-6, IL-8, TNF-alfa e IFN-gamma cuando compararon el suero de gestantes con APP(n=77) con controles emparejados por edad gestacional (n=47), así como con gestantes con PDP (n=19); aunque al igual que en nuestro estudio también encontraron una correlación positiva entre los niveles de IL-6, IL-8 y TNF-alfa³³⁵. En el año 2013 Isik y colaboradores tampoco encontraron diferencias en los niveles de IL-6 y leucocitos cuando compararon el suero de gestantes con APP (n=22) con controles emparejados por edad gestacional (n=22)³³³. El estudio más amplio en cuanto a tamaño muestral y panel de marcadores séricos estudiados ha sido el llevado a cabo por Tency y colaboradores y publicado en el año 2014³⁸¹. En él se compara a gestantes con PP con controles emparejados por edad gestacional y gestantes a término con PDP. Sus resultados resultaron similares a los nuestros en

cuanto a que, tras el análisis de regresión múltiple, no hallaron diferencias en ninguna de las citoquinas estudiadas en las gestantes con PP frente a los controles ni las gestantes con PDP.

La mayoría de los estudios sobre citoquinas en suero materno y el PP han sido llevados a cabo sobre gestantes asintomáticas con el objetivo de conocer qué gestantes se encuentran en alto riesgo de sufrir un PP mediante la detección de marcadores inflamatorios detectables semanas antes del evento. Murtha y colaboradores en el año 1998 fueron los primeros en relacionar aumentos de IL-6 en el suero de gestantes asintomáticas (n=130) que posteriormente desencadenaban un PP¹⁴¹. En el año 2000 Goldenberg y colaboradores estudiaron los niveles de GM-CSF en 388 gestantes asintomáticas en el segundo trimestre de la gestación, viendo como aquellas que presentaban un PP por debajo de las 32 semanas tenían niveles más elevados de GM-CSF que aquellas que presentaban un parto a término³⁵⁰. En el año 2002 Paternoster y colaboradores no encontraron relación entre los niveles de IL-6, IL-8 y TNF-alfa y el PP al estudiar el suero de 225 gestantes asintomáticas en el segundo trimestre de la gestación³⁴⁰. Los hallazgos de Paternoster y colaboradores fueron apoyados por otros dos estudios publicados en el año 2010 y 2014. Kramer y colaboradores, en su estudio publicado en 2010, estudiaron el plasma de 5337 gestantes asintomáticas en el segundo trimestre de la gestación y no encontraron ninguna relación entre las citoquinas estudiadas y el PP (PCR, IL-1beta, 4,5,6,8,10,12,17,18,IFN-gamma, TNF-alfa y beta, etc.)¹³⁵; así como Ozgu y colaboradores, en su estudio de 2014, tampoco encontraron ninguna relación entre los niveles de PCR e IL-6 y el PP³³⁴, mostrando además la ausencia de correlación de las citoquinas entre el suero materno y el líquido amniótico. Sin embargo Curry y colaboradores en el año 2007 sí encontraron una correlación, aunque débil, entre el PP moderado y tardío con niveles aumentados de IL-6 e IFN-gamma en el suero de 101.042 gestantes asintomáticas también obtenido en el segundo trimestre del embarazo, no encontrándose ninguna relación con la IL-2, TNF-alfa y GM-CSF³⁴⁷. Chow y colaboradores en el año 2008 encontraron un aumento de los niveles séricos de IL-12,15,17, IFN-gamma y TNF-alfa

cuando compararon las gestantes que tenían un PP frente a un parto a término (n=100)³⁴⁹. En ese mismo año Gargano y colaboradores también relacionaron las IL-1beta, 2, 4, 6, 12 e IFN-gamma con el PP por debajo de las 35 semanas y con signos clínicos de corioamnionitis (n=926)³⁴¹. Ruiz y colaboradores en el año 2012 relacionaron el PP con niveles aumentados de IL-1RA (n=470)³⁴², Jelliffe y colaboradores en el 2014 relacionaron los aumentos de TNF-alfa junto con una hiperlipidemia al PP (n=212)³⁴⁶ y Pereira y colaboradores en el 2016 lo hicieron con una disminución de los niveles de IL-10 y TGF-beta (n=327)³⁵⁵. Vogel y colaboradores en su estudio publicado en 2007 estudiaron el suero de 62 gestantes asintomáticas con PP previo encontrándose una relación individual con el PP con cada una de las citoquinas estudiadas (IL-1beta, 2, 5, 6, 8, 12, TGF-beta, TNF-alfa y GM-CSF), sin embargo el modelo predictor de PP recurrente sólo incluyó el TNF-alfa en suero materno; no se encontró relación entre las citoquinas estudiadas en suero materno con las de los fluidos cérvico-vaginales³⁴³. Sorokin y colaboradores en el año 2010 también publicaron un estudio realizado sobre gestantes asintomáticas con alto riesgo de PP encontrando una relación entre los niveles aumentados de PCR e IL-6 con el PP por debajo de las 32 semanas⁹¹. Por otro lado, son varios los estudios que han relacionado aumentos en los niveles de PCR en gestantes asintomáticas en el primer y segundo trimestre de la gestación con aumento en el riesgo de PP (Hvilsom en 2002¹³¹, Pitiphat en 2005¹³³, Lohsoonthorn en 2007¹³⁶ y Devyani en 2015¹³⁸).

Dada la gran heterogeneidad de estudios en cuanto a metodología empleada y marcadores séricos considerados es muy complicado establecer una comparación fehaciente con nuestro estudio. La potencia estadística de la gran mayoría de los estudios realizados sobre gestantes sintomáticas es muy débil teniendo en cuenta los tamaños muestrales tan reducidos que presentan. Tan sólo dos de los estudios publicados hasta el momento comparan tres grupos de estudio y han obtenido resultados similares a los publicados por nosotros. Bahar y colaboradores presentaron un tamaño muestral más reducido que el presentado en esta tesis (n=143)³³⁵ por

lo que nuestro estudio tan sólo se ve superado por el estudio de Tency y colaboradores³⁸¹. Serán necesarios nuevos trabajos, con un mayor tamaño muestral, en los que se estudien las diferentes variables implicadas en el PP y que nos ofrezcan herramientas capaces de detectar aquellas pacientes con un mayor riesgo de presentar un PP.

VII. Limitaciones

- 1) La principal limitación que presenta el estudio es su reducido tamaño muestral en comparación con los estudios publicados en población de bajo riesgo, lo que hace que las fórmulas presentadas tengan un escaso valor estadístico. La población de gestantes que presenta contracciones pretérmino es amplia, sin embargo la que presenta una cervicometría menor a 25 mm no lo es, de ahí la dificultad para reclutar pacientes.
- 2) Hubiera sido interesante considerar otros factores de riesgo maternos como el tipo de concepción (espontáneo o mediante técnicas de reproducción asistida), así como el nivel socioeconómico y el estatus marital.
- 3) Desde el punto de vista metodológico, el almacenamiento y la congelación de las muestras se ha esgrimido como una posible causa de alteración de los resultados bioquímicos. Se han expresado reservas acerca de los resultados obtenidos por estudios en los que la congelación de las muestras se ha realizado a temperaturas superiores a -80°C o en los que el tiempo de permanencia a temperatura ambiente fuese de varias horas o incluso días. En esta investigación se han seguido las recomendaciones acerca de la manipulación y conservación de las muestras. Además, se han realizado las mediciones por duplicado, comprobando la reproducibilidad de los datos obtenidos. Mediante estas medidas se ha tratado de minimizar la introducción de errores sistemáticos en el estudio.
- 4) Debido a limitaciones en el presupuesto no fue posible analizar un panel más amplio de citoquinas así como de marcadores de inflamación que están siendo relacionados en los últimos años con el PP tales como la procalcitonina, RANTES, IL-15 y 17, EGF, VEGF, etc. Se han conservado una serie de muestras para el análisis genético de las mismas y así poder establecer su relación con el PP en un futuro.

VIII. Conclusiones

En conclusión podemos decir que:

- 1) Los factores de riesgo materno considerados en este estudio no se consideran predictivos de APP en la población general ni de PP en la población con APP.
- 2) La longitud cervical se considera marcador de riesgo independiente del PP tanto en la población general como en las gestantes con APP.
- 3) Niveles aumentados de IL-6 se relacionan con el PP en gestantes con dinámica de parto y cérvix acortado.
- 4) La longitud cervical junto con los niveles séricos de PCR, IL-6 y TNF-alfa nos permiten predecir la edad gestacional al parto en la población general, mientras que en las gestaciones complicadas con amenaza de PP lo harían la longitud cervical junto con los niveles de PCR e IL-6.

IX. Bibliografía

1. Blencowe H, Cousens S, Oestergaard MZ, Chou D, Moller AB, Narwal R, et al. National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: A systematic analysis and implications. *Lancet*. 2012;379:2162-72.
2. March of Dimes, PMNCH, Children S the, WHO. Born Too Soon: The Global Action Report on Preterm Birth [Internet]. Geneva: Howson CP, Kinney MV, Lawn JE ; 2012 [citado 16 de octubre de 2016]. Disponible en: http://www.who.int/pmnch/media/news/2012/201204_borntoosoon-report.pdf
3. Blencowe H, Cousens S, Oestergaard MZ, Chou D, Moller AB, Narwal R. National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: A systematic analysis and implications [Internet]. London: Lancet; 2012 [citado 15 de octubre de 2016]. Disponible en: http://www.who.int/pmnch/media/news/2012/201204_borntoosoon_countryranking.pdf
4. Jackson RA, Gibson KA, Wu YW, Croughan MS. Perinatal outcomes in singletons following in vitro fertilization: a meta-analysis. *Obstet Gynecol*. 2004;103(3):551-63.
5. Tomashek KM, Shapiro-Mendoza CK, Davidoff MJ, Petrini JR. Differences in Mortality between Late-Preterm and Term Singleton Infants in the United States, 1995–2002. *J Pediatr*. 2007;151(5):450-456.e1.
6. Rellan S, Garcia de Ribera C, Aragón M. El recién nacido prematuro [Internet]. Madrid: Asociación Española de Pediatría; 2008 [citado 22 de enero de 2017]. Disponible en: http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/8_1.pdf

7. Swamy GK, Ostbye T, Skjaerven R. Association of Preterm Birth. JAMA. 2008;299(12):1429-36.
8. Lindström K, Winbladh B, Haglund B, Hjern A. Preterm infants as young adults: a Swedish national cohort study. Pediatrics. 2007;120(1):70-7.
9. Zeitlin J, Mortensen L, Cuttini M, Lack N, Nijhuis J, Haidinger G, et al. Declines in stillbirth and neonatal mortality rates in Europe between 2004 and 2010: results from the Euro-Peristat project. J Epidemiol Community Health. 2016;70:609-15.
10. Russell RB, Green NS, Steiner CA, Meikle S, Howse JL, Poschman K, et al. Cost of hospitalization for preterm and low birth weight infants in the United States. Pediatrics. 2007;120(1):e1-9.
11. Petrou S. The economic consequences of preterm birth during the first 10 years of life. BJOG. 2005;112 Suppl 1:10-5.
12. Romero R, Espinoza J, Kusanovic JP, Gotsch F, Hassan S, Erez O, et al. The preterm parturition syndrome. BJOG. 2006;113 Suppl 3:17-42.
13. Di Renzo GC, Roura LC. Guidelines for the management of spontaneous preterm labor. J Perinat Med. 2006;34(5):359-66.
14. Fernández Rego FJ, Gómez-Conesa A. La fisioterapia en el presente y futuro de los niños que nacen demasiado pequeños, demasiado pronto. Fisioterapia. 2012;34(1):1-3.
15. Tsoi E, Akmal S, Rane S, Otigbah C, Nicolaides KH. Ultrasound assessment of cervical length in threatened preterm labor. Ultrasound Obstet Gynecol. 2003;21(6):552-5.
16. Wax JR, Cartin A, Pinette MG. Biophysical and biochemical screening for the risk of preterm labor. Clin Lab Med. 2010;30(3):693-707.

17. Ressel G. ACOG issues recommendations on assessment of risk factors for preterm birth. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Am Fam Physician*. 2002;65(3):509-10.
18. Romero R, Sibai BM, Sanchez-Ramos L, Valenzuela GJ, Veille JC, Tabor B, et al. An oxytocin receptor antagonist (atosiban) in the treatment of preterm labor: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial with tocolytic rescue. *Am J Obstet Gynecol*. 2000;182(5):1173-83.
19. Sociedad Española De Ginecología y Obstetricia (SEGO). Amenaza de parto pretérmino [Internet]. Madrid: Sociedad Española De Ginecología y Obstetricia (SEGO); 2014 [citado 2 de octubre de 2016]. Disponible en: <http://www.gapsego.com/categoria-guia-asistencia/medicina-perinatal/>
20. Jukic AM, Baird DD, Weinberg CR, McConnaughey DR, Wilcox AJ. Length of human pregnancy and contributors to its natural variation. *Hum Reprod*. 2013;28(10):2848-55.
21. American College of Obstetricians and Gynecologists. Committee Opinion No. 579. Definition of Term Pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2013;122:1139-40.
22. Spong CY. Defining «Term» Pregnancy. *Jama*. 2013;309(23):2445.
23. Zeitlin J, Blondel B, Alexander S, Bréart G, Wildman K, Barros H, et al. Variation in rates of postterm birth in Europe: Reality or artefact? *BJOG*. 2007;114(9):1097-103.
24. Sociedad Española De Ginecología y Obstetricia (SEGO). Aborto espontáneo [Internet]. Madrid: Sociedad Española de Obstetricia y Ginecología (SEGO); 2010. Disponible en: <http://www.gapsego.com/categoria-guia-asistencia/medicina-perinatal/>

25. Biarent D, Bingham R, Richmond S, Maconochie I, Wyllie J, Simpson S, et al. European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2005: Section 6. Paediatric life support. *Resuscitation*. 2005;67 Suppl 1:S97-133.
26. Morley C. New Australian neonatal resuscitation guidelines. *J Paediatr Child Health*. 2007;43(1-2):6-8.
27. Swamy R, Mohapatra S, Bythell M, Embleton ND. Survival in infants live born at less than 24 weeks' gestation: the hidden morbidity of non-survivors. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2010;95(4):F293-4.
28. Papageorghiou AT, Kennedy SH, Salomon LJ, Ohuma EO, Ismail LC, Barros FC, et al. International standards for early fetal size and pregnancy dating based on ultrasound measurement of crown-rump length in the first trimester of pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014;44(6):641-8.
29. American Institute of Ultrasound in Medicine (AIUM). AIUM practice parameter for the performance of Obstetric Ultrasound Examinations [Internet]. USA: American Institute of Ultrasound in Medicine (AIUM); 2013 [citado 8 de noviembre de 2016]. Disponible en: <http://www.aium.org/resources/guidelines/obstetric.pdf>
30. Papaioannou GI, Syngelaki A, Poon LCY, Ross JA, Nicolaides KH. Normal ranges of embryonic length, embryonic heart rate, gestational sac diameter and yolk sac diameter at 6-10 weeks. *Fetal Diagn Ther*. 2010;28(4):207-19.
31. Napolitano R, Dhimi J, Ohuma E, Ioannou C, Conde-Agudelo A, Kennedy S, et al. Pregnancy dating by fetal crown-rump length: A systematic review of charts. *BJOG*. 2014;121(5):556-65.

32. Goldstein SR, Wolfson R. Endovaginal ultrasonographic measurement of early embryonic size as a means of assessing gestational age. *J Ultrasound Med.* 1994;13(1):27-31.
33. American College of Obstetricians and Gynecologists, American Institute of Ultrasound in Medicine, Society for Maternal-Fetal Medicine. Committee Opinion No. 611. Method for Estimating Due Date. *Obstet Gynecol.* 2014;124:863-6.
34. Mackenzie AP, Stephenson C, Funai EF. Prenatal assessment of gestational age and estimated date of delivery [Internet]. Waltham (MA): UpToDate; 2016 [citado 2 de diciembre de 2016]. Disponible en: <http://www.uptodate.com>
35. Butt K, Lim K, Bly S, Cargill Y, Davies G, Denis N, et al. Determination of Gestational Age by Ultrasound. *J Obstet Gynaecol Canada.* 2014;36(2):171-81.
36. Waldenström U, Axelsson O, Nilsson S. A comparison of the ability of a sonographically measured biparietal diameter and the last menstrual period to predict the spontaneous onset of labor. *Obstet Gynecol.* 1990;76(3):336-8.
37. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Antenatal care for uncomplicated pregnancies [Internet]. United Kingdom: National Institute for Health and Care Excellence (NICE); 2008 [citado 28 de noviembre de 2016]. Disponible en: <https://www.nice.org.uk/guidance/cg62>
38. Salomon SJ, Alfirevic Z, Bilardo CM, Chalouhi GE, Ghi T, Kagan KO et al. ISUOG practice guidelines: Performance of first-trimester fetal ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013;41(1):102-13.
39. Hadlock F, Harrist R, Martinez-Poyer J. How accurate is second trimester fetal dating? *J Ultrasound Med.* 1991;10(10):557-61.

40. Hadlock F, Deter R, Harrist R, Park S. Fetal biparietal diameter: rational choice of plane of section for sonographic measurement. *Am J Roentgenol.* 1982;138(5):871-4.
41. Hadlock FP, Deter RL, Carpenter RJ, Park SK. Estimating fetal age: Effect of head shape on BPD. *Am J Roentgenol.* 1981;137(1):83-5.
42. Mongelli M, Chew S, Yuxin NG, Biswas A. Third-trimester ultrasound dating algorithms derived from pregnancies conceived with artificial reproductive techniques. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2005;26(2):129-31.
43. World Health Organization (WHO). World Health Statistics 2008 [Internet]. France: World Health Organization; 2008 [citado 2 de diciembre de 2016]. Disponible en: http://www.who.int/whosis/whostat/EN_WHS08_TOCintro.pdf
44. Villar J, Papageorghiou AT, Knight HE, Gravett MG, Iams J, Waller SA, et al. The preterm birth syndrome: A prototype phenotypic classification. *Am J Obstet Gynecol.* 2012;206(2):119-23.
45. Chao TT, Bloom SL, Mitchell JS, McIntire DD, Leveno KJ. The diagnosis and natural history of false preterm labor. *Obstet Gynecol.* 2011;118(6):1301-8.
46. Sotiriadis A, Papatheodorou S, Kavvadias A, Makrydimas G. Transvaginal cervical length measurement for prediction of preterm birth in women with threatened preterm labor: A meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2010;35(1):54-64.
47. Haas DM, Imperiale TF, Kirkpatrick PR, Klein RW, Zollinger TW, Golichowski AM. Tocolytic therapy: a meta-analysis and decision analysis. *Obstet Gynecol.* 2009;113(3):585-94.
48. Hannah ME. Search for best tocolytic for preterm labour. *Lancet.* 2000;356:699-700.

49. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Tocolysis for Women in Preterm Labour. Green-top Guideline No. 1b. [Internet]. United Kingdom: Royal College of Obstetricians and Gynaecologists; 2011 [citado 2 de diciembre de 2016]. Disponible en: https://www.rcog.org.uk/globalassets/documents/guidelines/gtg_1b.pdf
50. Campillos J, Rodríguez B, Cruz E, Crespo R, Savirón R, Hernández M, et al. Manual de registros cardiotocográficos. 1º ed. Madrid: Wolters Kluwer; 2011.
51. Lockwood C, Ramin S, Barss V. Diagnosis of preterm labor and overview of preterm birth [Internet]. Waltham (MA): UpToDate; 2016 [citado 2 de diciembre de 2016]. Disponible en: <http://www.uptodate.com>
52. Laughon SK, Zhang J, Troendle J, Sun L, Reddy UM. Using a simplified Bishop score to predict vaginal delivery. *Obstet Gynecol.* 2011;117(4):805-11.
53. Kagan KO, Sonek J. How to measure cervical length. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;45(3):358-62.
54. Berghella V, Lockwood C, Levine D, Barss V. Second-trimester evaluation of cervical length for prediction of spontaneous preterm birth in singleton gestations [Internet]. Waltham (MA): UpToDate; 2016 [citado 2 de diciembre de 2016]. Disponible en: <http://www.uptodate.com>
55. Honest H, Forbes CA, Durée KH, Norman G, Duffy SB, Tsourapas A, et al. Screening to prevent spontaneous preterm birth: systematic reviews of accuracy and effectiveness literature with economic modelling. *Health Technol Assess.* 2009;13(43):1-627.
56. Berghella V, Roman A, Daskalakis C, Ness A, Baxter JK. Gestational age at cervical length measurement and incidence of preterm birth. *Obstet Gynecol.* 2007;110(2):311-7.

57. Fonseca EB, Celik E, Parra M, Singh M, Nicolaides KH. Progesterone and the risk of preterm birth among women with a short cervix. *N Engl J Med.* 2007;357(5):462-9.
58. Gramellini D, Fieni S, Molina E, Berretta R, Vadora E. Transvaginal sonographic cervical length changes during normal pregnancy. *J Ultrasound Med.* 2002;21(3):227-32-5.
59. Iams J, Goldenberg RL, Meis PJ, Mercer B, Moawad A, A D. The length of the cervix and the risk of spontaneous premature delivery. *Rev Epidemiol Sante Publique.* 1996;334(9):566-72.
60. Hibbard J, Tart M, Moawad A. Cervical length at 16-22 weeks' gestation and risk for preterm delivery. *Obstet Gynecol.* 2000;96(6):972-8.
61. Owen J, Yost N, Berghella V, MacPherson C, Swain M, Dildy GA, et al. Can shortened midtrimester cervical length predict very early spontaneous preterm birth? *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191(1):298-303.
62. To MS, Skentou C, Liao AW, Cacho A, Nicolaides KH. Cervical length and funneling at 23 weeks of gestation in the prediction of spontaneous early preterm delivery. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2001;18(3):200-3.
63. Crane JMG, Hutchens D. Transvaginal sonographic measurement of cervical length to predict preterm birth in asymptomatic women at increased risk: A systematic review. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31(5):579-87.
64. Hassan SS, Romero R, Vidyadhari D, Fusey S, Baxter JK, Khandelwal M, et al. Vaginal progesterone reduces the rate of preterm birth in women with a sonographic short cervix: A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011;38(1):18-31.

65. Sociedad Española De Ginecología y Obstetricia (SEGO). Amenaza de parto pretérmino [Internet]. Madrid: Sociedad Española de Obstetricia y Ginecología (SEGO); 2012 [citado 2 de octubre de 2016]. Disponible en: <http://www.gapsego.com/categoria-guia-asistencia/medicina-perinatal/>
66. Rust OA, Atlas RO, Kimmel S, Roberts WE, Hess LW. Does the presence of a funnel increase the risk of adverse perinatal outcome in a patient with a short cervix? *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192(4):1060-6.
67. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Prediction and early detection of preterm labor. *Obstet Gynecol.* 2003;101(2):402-12.
68. Tsoi E, Fuchs IB, Rane S, Geerts L, Nicolaides KH. Sonographic measurement of cervical length in threatened preterm labor in singleton pregnancies with intact membranes. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2005;25(4):353-6.
69. Riboni F, Vitulo A, Dell'avano M, Plebani M, Battagliarin G, Paternoster D. Biochemical markers predicting pre-term delivery in symptomatic patients: phosphorylated insulin-like growth factor binding protein-1 and fetal fibronectin. *Arch Gynecol Obstet.* 2011;284:1325-9.
70. Echebiri NC, Sinkey RG, Szczepanski JL, Shelton JA, McDoom MM, Odibo AO. Placental Alpha-Microglobulin-1 Test in Resource-Limited Settings. *Obstet Gynecol.* 2016;127(3):584-91.
71. Ting HS, Chin PS, Yeo GSH, Kwek K. Comparison of bedside test kits for prediction of preterm delivery: Phosphorylated insulin-like growth factor binding protein-1 (pIGFBP-1) test and fetal fibronectin test. *Ann Acad Med Singapore.* 2007;36(6):399-402.

72. Feinberg RF, Kliman HJ, Lockwood CJ. Is oncofetal fibronectin a trophoblast glue for human implantation? *Am J Pathol.* 1991;138(3):537-43.
73. Van Baaren G-J, Vis JY, Wilms FF, Oudijk MA, Kwee A, Porath MM, et al. Predictive value of cervical length measurement and fibronectin testing in threatened preterm labor. *Obstet Gynecol.* 2014;123(6):1185-92.
74. Deshpande SN, van Asselt AD, Tomini F, Armstrong N, Allen A, Noake C, et al. Rapid fetal fibronectin testing to predict preterm birth in women with symptoms of premature labour: a systematic review and cost analysis. *Health Technol Assess.* 2013;17(40):1-138.
75. Schmitz T, Maillard F, Bessard-Bacquaert S, Kayem G, Fulla Y, Cabrol D, et al. Selective use of fetal fibronectin detection after cervical length measurement to predict spontaneous preterm delivery in women with preterm labor. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;194(1):138-43.
76. Julkunen M, Koistinen R, Aalto-Setälä K, Seppälä M, Jänne O a, Kontula K. Primary structure of human insulin-like growth factor-binding protein/placental protein 12 and tissue-specific expression of its mRNA. *FEBS Lett.* 1988;236(2):295-302.
77. Kedzia A, Tarka A, Petriczko E, Pruski D, Iwaniec K. Placental growth hormone (PGH), pituitary growth hormone (GH1), insulin-like growth factor (IGF-I) and ghrelin in pregnant women's blood serum. *Ginekol Pol.* 2013;84(7):620-3.
78. Kosinska-Kaczynska K, Bomba-Opon D, Bobrowska K, Kozlowski S, Brawura-Biskupski-Samaha R, Szymusik I, et al. Phosphorylated IGFBP-1 in predicting successful vaginal delivery in post-term pregnancy. *Arch Gynecol Obstet.* 2014;292(1):45-52.

79. Cooper S, Lange I, Wood S, Tang S, Miller L, Ross S. Diagnostic accuracy of rapid pHIGFBP-I assay for predicting preterm labor in symptomatic patients. *J Perinatol.* 2012;32(6):460-5.
80. Conde-Agudelo A, Romero R. Cervical phosphorylated insulin-like growth factor binding protein-1 test for the prediction of preterm birth: A systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;214(1):57-73.
81. Lee SE, Park JS, Norwitz ER, Kim KW, Park HS, Jun JK. Measurement of placental alpha-microglobulin-1 in cervicovaginal discharge to diagnose rupture of membranes. *Obstet Gynecol.* 2007;109(3):634-40.
82. Abdelazim IA, Makhlof HH. Placental alpha microglobulin-1 (AmniSure test) versus insulin-like growth factor binding protein-1 (Actim PROM test) for detection of premature rupture of fetal membranes. *J Obstet Gynaecol Res.* 2013;39(6):1129-36.
83. Caughey AB, Robinson JN, Norwitz ER. Contemporary diagnosis and management of preterm premature rupture of membranes. *Rev Obstet Gynecol.* 2008;1(1):11-22.
84. Birkenmaier A, Ries JJ, Kuhle J, Bürki N, Lapaire O, Hösli I. Placental α -microglobulin-1 to detect uncertain rupture of membranes in a European cohort of pregnancies. *Arch Gynecol Obstet.* 2012;285(1):21-5.
85. El-Messidi A, Cameron A. Diagnosis of Premature Rupture of Membranes: Inspiration From the Past and Insights for the Future. *J Obstet Gynaecol Canada.* 2010;32(6):561-9.
86. Albayrak M, Ozdemir I, Koc O, Ankarali H, Ozen O. Comparison of the diagnostic efficacy of the two rapid bedside immunoassays and combined clinical conventional diagnosis in prelabour rupture of membranes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011;158(2):179-82.

87. Lee S, Lee J, Seong H, Lee S, Park J, Romero R. The Clinical Significance of a Positive Amnisure Test™ in Women With Term Labor with Intact Membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009;22(4):305-10.
88. Kumar D. Proinflammatory Cytokines Found in Amniotic Fluid Induce Collagen Remodeling, Apoptosis, and Biophysical Weakening of Cultured Human Fetal Membranes. *Biol Reprod.* 2005;74(1):29-34.
89. Gonzalez JM, Franzke CW, Yang F, Romero R, Girardi G. Complement activation triggers metalloproteinases release inducing cervical remodeling and preterm birth in mice. *Am J Pathol.* 2011;179(2):838-49.
90. Vaisbuch E, Hassan SS, Mazaki-Tovi S, Nhan-Chang CL, Kusanovic JP, Chaiworapongsa T, et al. Patients with an asymptomatic short cervix (< 15 mm) have a high rate of subclinical intraamniotic inflammation: implications for patient counseling. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;202(5):433.e1-e8.
91. Sorokin Y, Romero R, Mele L, Wapner R, Iams J, Dudley D, et al. Maternal Serum Interleukin-6, C-Reactive Protein, and Matrix Metalloproteinase-9 Concentrations as Risk Factors for Preterm Birth < 32 Weeks and Adverse Neonatal Outcomes. *Am J Perinatol.* 2010;27(8):631-40.
92. Lee S, Romero R, Park J, Kim S, Park C, Korzeniewski S, et al. The Clinical Significance Of A Positive Amnisure Test™ in Women with Preterm Labor and Intact Membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012;25(9):1690-8.
93. Shiina T, Nightingale KR, Palmeri ML, Hall TJ, Bamber JC, Barr RG, et al. WFUMB Guidelines and Recommendations for Clinical Use of Ultrasound Elastography: Part 1: Basic Principles and Terminology. *Ultrasound Med Biol.* 2015;41(5):1126-47.

94. Swiatkowska-Freund M, Preis K. Elastography of the uterine cervix: Implications for success of induction of labor. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011;38(1):52-6.
95. Molina FS, Gómez LF, Florido J, Padilla MC, Nicolaides KH. Quantification of cervical elastography: A reproducibility study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2012;39(6):685-9.
96. Weichert A, von Schöning D, Fischer T, Thomas A. Cervical Sonoelastography and Cervical Length Measurement but not Cervicovaginal Interleukin-6 Are Predictors for Preterm Birth. *Ultrasound Int Open.* 2016;2(3):E83-9.
97. Sonnier L, Bouhanna P, Arnou C, Rozenberg P. Elastography of cervix to predict delay from induction to delivery. *Gynecol Obstet Fertil.* 2014;42(12):827-31.
98. Wozniak S, Czuczwar P, Szkodziak P, Milart P, Wozniakowska E, Paszkowski T. Elastography in predicting preterm delivery in asymptomatic, low-risk women: a prospective observational study. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2014;14(1):238.
99. Sabiani L, Haumonte JB, Loundou A, Caro AS, Brunet J, Cocallemen JF, et al. Cervical HI-RTE elastography and pregnancy outcome: A prospective study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015;186:80-4.
100. Köbbing K, Fruscalzo A, Hammer K, Möllers M, Falkenberg M, Kwiecien R, et al. Quantitative Elastography of the uterine cervix as a predictor of preterm delivery. *J Perinatol.* 2014;34:774-80.
101. Hernandez-Andrade E, Romero R, Korzeniewski SJ, Ahn H, Auriolles-Garibay A, Garcia M, et al. Cervical strain determined by ultrasound elastography and its association with spontaneous preterm delivery. *J Perinat Med.* 2014;42(2):159-69.

102. Pereira S, Frick AP, Poon LC, Zamprakou A, Nicolaides KH. Successful induction of labor: Prediction by preinduction cervical length, angle of progression and cervical elastography. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014;44(4):468-75.
103. Fruscalzo A, Mazza E, Feltovich H, Schmitz R. Cervical elastography during pregnancy: a critical review of current approaches with a focus on controversies and limitations. *J Med Ultrason.* 2016;43(4):1-12.
104. Lammers WJEP. The electrical activities of the uterus during pregnancy. *Reprod Sci.* 2013;20(2):182-9.
105. Euliano TY, Nguyen MT, Darmanjian S, McGorray SP, Euliano N, Onkala A, et al. Monitoring uterine activity during labor: A comparison of 3 methods. *Am J Obstet Gynecol.* 2013;208(1):66.e1-e6.
106. Haran G, Elbaz M, Fejgin MD, Biron-Shental T. A comparison of surface acquired uterine electromyography and intrauterine pressure catheter to assess uterine activity. *Am J Obstet Gynecol.* 2012;206(5):412.e1-e5.
107. Kandil MA, Abdel-Sattar MM, Abdel-Salam SM, Saleh SA, Khalafallah MM. Abdominal electromyography may predict the response to tocolysis in preterm labor. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2012;160(1):18-21.
108. Lange L, Vaeggemose A, Kidmose P, Mikkelsen E, Ulbjerg N, Johansen P. Velocity and Directionality of the Electrohysterographic Signal Propagation. *PLoS One.* 2014;9(1):6.
109. Lucovnik M, Maner WL, Chambliss LR, Blumrick R, Balducci J, Novak-Antolic Z, et al. Noninvasive uterine electromyography for prediction of preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;204(3):228.e1-e10.

110. Lau H de, Rabotti C, Oosterbaan HP, Mischi M, Oei GS. Study protocol: PoPE-Prediction of Preterm delivery by Electrohysterography. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2014;14(1):192.
111. Jain J, Gyamfi-Bannerman C. Future directions in preterm birth research. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2016;21(2):129-32.
112. Hee L, Liao D, Sandager P, Gregersen H, Uldbjerg N. Cervical stiffness evaluated in vivo by Endoflip in pregnant women. *PLoS One*. 2014;9(3):1-9.
113. Badir S, Mazza E, Zimmermann R, Bajka M. Cervical softening occurs early in pregnancy: Characterization of cervical stiffness in 100 healthy women using the aspiration technique. *Prenat Diagn*. 2013;33(8):737-41.
114. Menon R, Torloni M, Voltolini C, Torrichelli M, Merialdi M, Betrán A, et al. Biomarkers of spontaneous preterm birth: an overview of the literature in the last four decades. *Reprod Sci*. 2011;18(11):1046-70.
115. Heine RP, McGregor J a, Dullien VK. Accuracy of salivary estriol testing compared to traditional risk factor assessment in predicting preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180(1 Pt 3):S214-8.
116. McGregor JA, Jackson GM, Lachelin GCL, Goodwin TM, Artal R, Hastings C, et al. Salivary estriol as risk assessment for preterm labor: A prospective trial. *Am J Obstet Gynecol*. 1995;173(4):1337-42.
117. Ramsey PS, Andrews WW. Biochemical predictors of preterm labor: Fetal fibronectin and salivary estriol. *Clin Perinatol*. 2003;30(4):701-33.
118. Chan RL. Biochemical markers of spontaneous preterm birth in asymptomatic women. *Biomed Res Int*. 2014;2014:164081.

119. Wei SQ, Fraser W, Luo ZC. Inflammatory cytokines and spontaneous preterm birth in asymptomatic women: a systematic review. *Obstet Gynecol.* 2010;116(2 Pt 1):393-401.
120. Cockle J V, Gopichandran N, Walker JJ, Levene MI, Orsi NM. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in preterm perinatal complications. *Reprod Sci.* 2007;14:629-45.
121. Tu FF, Goldenberg RL, Tamura T, Drews M, Zucker SJ, Voss HF. Prenatal plasma matrix metalloproteinase-9 levels to predict spontaneous preterm birth. *Obstet Gynecol.* 1998;92(3):446-9.
122. Romero R, Chaiworapongsa T, Espinoza J, Gomez R, Yoon BH, Edwin S, et al. Fetal plasma MMP-9 concentrations are elevated in preterm premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;187(5):1125-30.
123. Marnell L, Mold C, Du Clos TW. C-reactive protein: Ligands, receptors and role in inflammation. *Clin Immunol.* 2005;117(2):104-11.
124. de Oliveira LC, Franco-Sena AB, Rebelo F, Farias DR, Lepsch J, Lima N da S, et al. Factors associated with maternal serum C-reactive protein throughout pregnancy: A longitudinal study in women of Rio de Janeiro, Brazil. *Nutrition.* 2015;31(9):1103-8.
125. Lee SY, Park KH, Jeong EH, Oh KJ, Ryu A, Park KU. Relationship between maternal serum C-reactive protein, funisitis and early-onset neonatal sepsis. *J Korean Med Sci.* 2012;27(6):674-80.
126. Shahshahan Z, Rasouli O. The use of maternal C-reactive protein in the predicting of preterm labor and tocolytic therapy in preterm labor women. *Adv Biomed Res.* 2014;3:154.

127. Shahshahan Z, Hashemi L, Rasouli O. Maternal serum interleukin 6 and 8 and C-reactive protein in predicting the tocolytic therapy in preterm labor. *J Res Med Sci.* 2014;19:537-41.
128. Howman RA, Charles AK, Jacques A, Doherty DA, Simmer K, Strunk T, et al. Inflammatory and Haematological Markers in the Maternal, Umbilical Cord and Infant Circulation in Histological Chorioamnionitis. *PLoS One.* 2012;7(12):1-8.
129. Trochez-Martinez RD, Smith P, Lamont RF. Use of C-reactive protein as a predictor of chorioamnionitis in preterm prelabour rupture of membranes: A systematic review. *BJOG.* 2007;114(7):796-801.
130. Stepan M, Cobo T, Musilova I, Hornychova H, Jacobsson B, Kacerovsky M. Maternal serum C-reactive protein in women with preterm prelabor rupture of membranes. *PLoS One.* 2016;11(3):1-16.
131. Hvilsum GB, Thorsen P, Jeune B, Bakketeig LS. C-reactive protein: a serological marker for preterm delivery? *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2002;81(5):424-9.
132. Shahshahan, Z; Iravani H. Comparison of CRP and ALK-P serum levels in prediction of preterm delivery. *Adv Biomed Res.* 2016;5:17.
133. Pitiphat W, Gillman MW, Joshipura KJ, Williams PL, Douglass CW, Rich-Edwards JW. Plasma C-reactive protein in early pregnancy and preterm delivery. *Am J Epidemiol.* 2005;162(11):1108-13.
134. Vogel I, Grove J, Thorsen P, Moestrup SK, Uldbjerg N, Møller HJ. Preterm delivery predicted by soluble CD163 and CRP in women with symptoms of preterm delivery. *BJOG.* 2005;112(6):737-42.

135. Kramer MS, Kahn SR, Platt RW, Genest J, Chen MF, Goulet L, et al. Mid-trimester maternal plasma cytokines and CRP as predictors of spontaneous preterm birth. *Cytokine*. 2010;49(1):10-4.
136. Lohsoonthorn V, Qiu C, Williams MA. Maternal serum C-reactive protein concentrations in early pregnancy and subsequent risk of preterm delivery. *Clin Biochem*. 2007;40(5-6):330-5.
137. Moghaddam Banaem L, Mohamadi B, Asghari Jaafarabadi M, Aliyan Moghadam N. Maternal serum C-reactive protein in early pregnancy and occurrence of preterm premature rupture of membranes and preterm birth. *J Obstet Gynaecol Res*. 2012;38(5):780-6.
138. Devyani S, Geeta J, Godawari J, Kumar SS. Maternal Serum C - Reactive Protein Concentration in Early Pregnancy and Subsequent Risk of Preterm Delivery. *J Evol Med Dent Sci*. 2015;4(33):5736-40.
139. Halder A, Agarwal R, Sharma S, Agarwal S. Predictive significance of C reactive protein in spontaneous preterm delivery: a prospective cohort study. *Int J Reprod Contraception, Obstet Gynecol*. 2013;2(1):47.
140. Ghezzi F, Franchi M, Raio L, Di Naro E, Bossi G, D'Eril GVM, et al. Elevated amniotic fluid C-reactive protein at the time of genetic amniocentesis is a marker for preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol*. 2002;186(2):268-73.
141. Murtha AP, Greig PC, Jimmerson CE, Herbert WNP. Maternal serum interleukin-6 concentration as a marker for impending preterm delivery. *Obstet Gynecol*. 1998;91(2):161-4.

142. Holzman C, Jetton J, Siler-Khodr T, Fisher R, Rip T. Second trimester corticotropin-releasing hormone levels in relation to preterm delivery and ethnicity. *Obstet Gynecol.* 2001;97(5 Pt 1):657-63.
143. Inder WJ, Prickett TCR, Ellis MJ, Hull L, Reid R, Benny PS, et al. The utility of plasma CRH as a predictor of preterm delivery. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(12):5706-10.
144. Florio P, Linton E a, Torricelli M, Faldini E, Reis FM, Imperatore A, et al. Prediction of preterm delivery based on maternal plasma urocortin. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(12):4734-7.
145. Bryant-Greenwood GD, Kern A, Yamamoto SY, Sadowsky DW, Novy MJ. Relaxin and the Human Fetal Membranes. *Reprod Sci.* 2007;14 Suppl 8:42-5.
146. Spencer K, Cowans NJ, Molina F, Kagan KO, Nicolaidis KH. First-trimester ultrasound and biochemical markers of aneuploidy and the prediction of preterm or early preterm delivery. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31(2):147-52.
147. She B, Chen S, Lee F, Cheong M, Tsai M. Low Maternal Serum Levels of Pregnancy-Associated Plasma Protein-a During the First Trimester Are Associated With Subsequent Preterm Delivery With Preterm Premature Rupture of Membranes. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2007;46(3):242-7.
148. Smith GCS, Shah I, White IR, Pell JP, Crossley JA, Dobbie R. Maternal and biochemical predictors of spontaneous preterm birth among nulliparous women: A systematic analysis in relation to the degree of prematurity. *Int J Epidemiol.* 2006;35(5):1169-77.
149. Saade GR, Boggess KA, Sullivan SA, Markenson GR, Iams JD, Coonrod D V, et al. Development and validation of a spontaneous preterm delivery predictor in asymptomatic women. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;214(5):633e1-e24.

150. McPheeters ML, Miller WC, Hartmann KE, Savitz DA, Kaufman JS, Garrett JM, et al. The epidemiology of threatened preterm labor: A prospective cohort study. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192(4):1325-30.
151. Gomez R, Romero R, Nien JK, Chaiworapongsa T, Medina L, Kim YM, et al. A short cervix in women with preterm labor and intact membranes: A risk factor for microbial invasion of the amniotic cavity. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192(3):678-89.
152. Palacio M, Cobo T, Bosch J, Filella X, Navarro-Sastre A, Ribes A, et al. Cervical length and gestational age at admission as predictors of intra-amniotic inflammation in preterm labor with intact membranes. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009;34(4):441-7.
153. Esplin MS, O'Brien E, Fraser A, Kerber R a, Clark E, Simonsen SE, et al. Estimating recurrence of spontaneous preterm delivery. *Obstet Gynecol.* 2008;112(3):516-23.
154. Bhattacharya S, Raja EA, Mirazo ER, Campbell DM, Lee AJ, Norman JE, et al. Inherited predisposition to spontaneous preterm delivery. *Obstet Gynecol.* 2010;115(6):1125-33.
155. Gardosi J, Francis a. Early pregnancy predictors of preterm birth: the role of a prolonged menstruation-conception interval. *BJOG.* 2000;107(2):228-37.
156. Ananth C, Getahun D, Peltier M, Salihu H, Vintzileos A. Recurrence of spontaneous versus medically indicated preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;195(3):643-50.
157. McManemy J, Cooke E, Amon E, Leet T. Recurrence risk for preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;196(6):576.e1-e7.
158. Lykke JA, Paidas MJ, Langhoff-Roos J. Recurring complications in second pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2009;113(6):1217-24.

159. Lemmers M, Verschoor MAC, Hooker AB, Opmeer BC, Limpens J, Huirne JAF, et al. Dilatation and curettage increases the risk of subsequent preterm birth: A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod.* 2016;31(1):34-45.
160. Smith GCS, Pell JP, Dobbie R. Interpregnancy interval and risk of preterm birth and neonatal death: retrospective cohort study. *BMJ.* 2003;327:313.
161. Defranco EA, Seske LM, Greenberg JM, Muglia LJ. Influence of interpregnancy interval on neonatal morbidity. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;212(3):386.e1-e9.
162. Conde-agudelo A, Rosas-bermúdez A, Kafury-goeta AC. Birth Spacing and Risk of Adverse Perinatal Outcomes. 2008;295(26):1809-23.
163. DeFranco EA, Stamilio DM, Boslaugh SE, Gross GA, Muglia LJ. A short interpregnancy interval is a risk factor for preterm birth and its recurrence. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;197(3):264.e1-e6.
164. Shachar BZ, Lyell DJ. Interpregnancy interval and obstetric complications. *Obstet Gynecol Surv.* 2012;67(9):584-96.
165. Declercq E, Luke B, Belanoff C, Cabral H, Diop H, Gopal D, et al. Perinatal outcomes associated with assisted reproductive technology: The Massachusetts Outcomes Study of Assisted Reproductive Technologies (MOSART). *Fertil Steril.* 2015;103(4):888-95.
166. Katalinic A, Rösch C, Ludwig M. Pregnancy course and outcome after intracytoplasmic sperm injection: A controlled, prospective cohort study. *Fertil Steril.* 2004;81(6):1604-16.
167. Cooper AR, O'Neill KE, Allsworth JE, Jungheim ES, Odibo AO, Gray DL, et al. Smaller fetal size in singletons after infertility therapies: The influence of technology and the underlying infertility. *Fertil Steril.* 2011;96(5):1100-6.

168. Joseph K, Fahey J, Shankardass K, Allen V, O'Campo P, Dodds L, et al. Effects of socioeconomic position and clinical risk factors on spontaneous and iatrogenic preterm birth. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2014;14(1):117.
169. Shah PS, Zao J. Induced termination of pregnancy and low birthweight and preterm birth: A systematic review and meta-analyses. *BJOG*. 2009;116(11):1425-42.
170. Kiely JL. What is the population-based risk of preterm birth among twins and other multiples? *Clin Obstet Gynecol*. 1998;41(1):3-11.
171. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Premature Birth [Internet]. USA: Centers for Disease Control and Prevention (CDC); 2016 [citado 10 de noviembre de 2016]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/features/prematurebirth/>
172. Schempf AH, Branum AM, Lukacs SL, Schoendorf KC. Maternal age and parity-associated risks of preterm birth: Differences by race/ethnicity. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2007;21(1):34-43.
173. Han Z, Mulla S, Beyene J, Liao G, McDonald SD. Maternal underweight and the risk of preterm birth and low birth weight: A systematic review and meta-analyses. *Int J Epidemiol*. 2011;40(1):65-101.
174. Dietz PM, Callaghan WM, Cogswell ME, Morrow B, Ferre C, Schieve LA. Combined effects of prepregnancy body mass index and weight gain during pregnancy on the risk of preterm delivery. *Epidemiology*. 2006;17:170-7.
175. Stotland NE, Caughey AB, Lahiff M, Abrams B. Weight gain and spontaneous preterm birth. *Obstet Gynecol*. 2006;108(6):1448-55.

176. Wise LA, Palmer JR, Heffner LJ, Rosenberg L. Prepregnancy body size, gestational weight gain, and risk of preterm birth in African-American women. *Epidemiology*. 2010;21(2):243-52.
177. Honest H, Bachmann LM, Ngai C, Gupta JK, Kleijnen J, Khan KS. The accuracy of maternal anthropometry measurements as predictor for spontaneous preterm birth - A systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2005;119(1):11-20.
178. Wadhwa PD, Entringer S, Buss C, Lu MC. The contribution of maternal stress to preterm birth: Issues and considerations. *Clin Perinatol*. 2011;38(3):351-84.
179. Lockwood C, Ramin S, Barss V. Stress-associated preterm delivery: the role of corticotropin-releasing hormone. *Am J Obs Gynecol*. 1999;180(1):S264-6.
180. Kramer MS, Lydon J, Séguin L, Goulet L, Kahn SR, McNamara H, et al. Stress pathways to spontaneous preterm birth: The role of stressors, psychological distress, and stress hormones. *Am J Epidemiol*. 2009;169(11):1319-26.
181. Shaw JG, Asch SM, Kimerling R, Frayne SM, Shaw K a, Phibbs CS. Posttraumatic stress disorder and risk of spontaneous preterm birth. *Obstet Gynecol*. 2014;124(6):1111-9.
182. Hodnett ED, Fredericks S, Weston J. Support During Pregnancy for Women at Increased Risk of Low Birthweight Babies. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010;(6):CD000198.
183. Kyrklund-Blomberg NB, Chattingius S. Preterm birth and maternal smoking: risks related to gestational age and onset of delivery. *Am J Obs Gynecol*. 1998;179(4):1051-5.
184. Henriksen T, Hedegaard M, Secher N, Wilcox A. Standing at work and preterm delivery. *Br J Obstet Gynaecol*. 1995;102(3):198-206.

185. Luke B, Mamelle N, Keth L, Munoz F, Minogue J, Papiernik E, et al. The association between occupational factors and preterm birth: A United States nurses' study. *Am J Obstet Gynecol.* 1995;173(3):849-62.
186. Newman RB, Goldenberg RL, Moawad AH, Iams JD, Meis PJ, Das A, et al. Occupational fatigue and preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;184(3):438-46.
187. Lawson CC, Whelan EA, Hibert EN, Grajewski B, Spiegelman D, Rich-Edwards JW. Occupational factors and risk of preterm birth in nurses. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;200(1):2009.
188. Barakat R, Stirling J, Lucia A. Does exercise training during pregnancy affect gestational age? A randomised controlled trial. *Br J Sports Med.* 2008;42(8):674-8.
189. Saurel-Cubizolles MJ. Employment, working conditions, and preterm birth: results from the Europop case-control survey. *J Epidemiol Community Heal.* 2004;58(5):395-401.
190. Owe KM, Nystad W, Skjaerven R, Stigum H, BØ K. Exercise during pregnancy and the gestational age distribution: A cohort study. *Med Sci Sports Exerc.* 2012;44(6):1067-74.
191. Berghella V, Klebanoff M, McPherson C, Carey JC, Hauth JC, Ernest JM, et al. Sexual intercourse association with asymptomatic bacterial vaginosis and *Trichomonas vaginalis* treatment in relationship to preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;187(5):1277-82.
192. Olsen SF, Secher NJ. Low consumption of seafood in early pregnancy as a risk factor for preterm delivery: prospective cohort study. *BMJ.* 2002;324:1-5.
193. Ota E, Tobe-Gai R, Mori R, Farrar D. Antenatal dietary advice and supplementation to increase energy and protein intake. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;(9):CD000032.

194. Spence MR, Williams R, DiGregorio GJ, Kirby-McDonnell A, Polansky M. The relationship between recent cocaine use and pregnancy outcome. *Obstet Gynecol.* 1991;78(3 Pt 1):326-9.
195. Borges G, Lopez-Cervantes M, Medina-Mora ME, Tapia-Conyer R, Garrido F. Alcohol consumption, low birth weight, and preterm delivery in the National Addiction Survey (Mexico). *Int J Addict.* 1993;28(4):355-68.
196. Almario C, Seligman NS, Dysart KC, Berghella V, Baxter JK. Risk factors for preterm birth among opiate-addicted gravid women in a methadone treatment program. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;201(3):326.e1-e6.
197. Dechen T, Sumit K, Ranabir P. Correlates of Vaginal Colonization with Group B Streptococci among Pregnant Women. *J Glob Infect Dis.* 2010;2(3):236-41.
198. Andrews WW, Goldenberg RL, Mercer B, Iams J, Meis P, Moawad A, et al. The preterm prediction study: Association of second-trimester genitourinary chlamydia infection with subsequent spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(3):662-8.
199. Bretelle F, Rozenberg P, Pascal A, Favre R, Bohec C, Loundou A, et al. High *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* vaginal loads are associated with preterm birth. *Clin Infect Dis.* 2015;60(6):860-7.
200. Watson-Jones D, Chagalucha J, Gumodoka B, Weiss H, Rusizoka M, Ndeki L, et al. Syphilis in pregnancy in Tanzania. I. Impact of maternal syphilis on outcome of pregnancy. *J Infect Dis.* 2002;186:940-7.
201. Silver BJ, Guy RJ, Kaldor JM, Jamil MS, Rumbold AR. *Trichomonas vaginalis* as a cause of perinatal morbidity: a systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Dis.* 2014;41(6):369-76.

202. Collins S, Ramsay M, Slack MPE, Campbell H, Flynn S, Litt D, et al. Risk of invasive *Haemophilus influenzae* infection during pregnancy and association with adverse fetal outcomes. *JAMA*. 2014;311(11):1125.
203. Schnarr J, Smaill F. Asymptomatic bacteriuria and symptomatic urinary tract infections in pregnancy. *Eur J Clin Invest*. 2008;38 Suppl 2:50-7.
204. Meis PJ, Michielutte R, Peters TJ, Wells HB, Sands RE, Coles EC, et al. Factors associated with preterm birth in Cardiff, Wales. II. Indicated and spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 1995;173:597-602.
205. Smaill F, Vazquez JC. Antibiotics for asymptomatic bacteriuria in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;(2):CD000490.
206. Boggess KA, Moss K, Murtha A, Offenbacher S, Beck JD. Antepartum vaginal bleeding, fetal exposure to oral pathogens, and risk for preterm birth at <35 weeks of gestation. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;194(4):954-60.
207. Offenbacher S, Boggess KA, Murtha AP, Jared HL, Lieff S, McKaig RG, et al. Progressive periodontal disease and risk of very preterm delivery. *Obstet Gynecol*. 2006;107(1):29-36.
208. Boggess KA, Moss K, Madianos P, Murtha AP, Beck J, Offenbacher S. Fetal immune response to oral pathogens and risk of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 2005;193(3):1121-6.
209. Stamilio DM, Chang JJ, Macones GA. Periodontal disease and preterm birth: do the data have enough teeth to recommend screening and preventive treatment? *Am J Obstet Gynecol*. 2007;196(2):93-4.

210. Michalowicz B, Hodges J, DiAngelis A, Lupo V, Novak M, Ferguson J, et al. Treatment of periodontal disease and the risk of preterm birth. *N Engl J Med*. 2006;355:1885-94.
211. Aidoo M, McElroy PD, Kolczak MS, Terlouw DJ, Ter Kuile FO, Nahlen B, et al. Tumor necrosis factor-alpha promoter variant 2 (TNF2) is associated with pre-term delivery, infant mortality, and malaria morbidity in western Kenya: Asembo bay cohort project IX. *Genet Epidemiol*. 2001;21(3):201-11.
212. Sociedad Española De Ginecología y Obstetricia (SEGO). Rotura prematura de membranas [Internet]. Madrid: Sociedad Española de Obstetricia y Ginecología (SEGO); 2012 [citado 24 de septiembre de 2016]. Disponible en: <http://www.gapsego.com/categoria-guia-asistencia/medicina-perinatal/>
213. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Preterm prelabour rupture of membranes. Green-top Guideline No. 44. [Internet]. United Kingdom: Royal College of Obstetricians and Gynaecologists; 2010 [citado 2 de diciembre de 2016]. Disponible en: https://www.rcog.org.uk/globalassets/documents/guidelines/gtg_44.pdf
214. Lucovnik M, Tul N, Verdenik I, Blickstein I. Perinatal outcomes in singleton and twin pregnancies following first-trimester bleeding. *Am J Obstet Gynecol*. 2014;34:673-6.
215. Winkvist A, Mogren I, Högberg U. Familial patterns in birth characteristics: Impact on individual and population risks. *Int J Epidemiol*. 1998;27(2):248-54.
216. Boivin A, Luo Z-C, Audibert F, Mâsse B, Lefebvre F, Tessier R, et al. Risk for preterm and very preterm delivery in women who were born preterm. *Obstet Gynecol*. 2015;125(5):1177-84.

217. Manuck TA, Lai Y, Meis PJ, Sibai B, Spong CY, Rouse DJ, et al. Admixture mapping to identify spontaneous preterm birth susceptibility loci in African Americans. *Obstet Gynecol.* 2011;117(5):1078-84.
218. Genc MR, Onderdonk A. Endogenous bacterial flora in pregnant women and the influence of maternal genetic variation. *BJOG.* 2011;118(2):154-63.
219. Genc MR, Witkin SS, Delaney ML, Paraskevas L-R, Tuomala RE, Norwitz ER, et al. A disproportionate increase in IL-1beta over IL-1ra in the cervicovaginal secretions of pregnant women with altered vaginal microflora correlates with preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;190(5):1191-7.
220. Simhan HN, Krohn MA. First-trimester cervical inflammatory milieu and subsequent early preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;200(4):377.e1-e4.
221. Adams KM, Eschenbach DA. The genetic contribution towards preterm delivery. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2004;9(6):445-52.
222. Engel SA, Erichsen HC, Savitz DA, Thorp J, Chanock SJ, Olshan AF. Risk of spontaneous preterm birth is associated with common proinflammatory cytokine polymorphisms. *Epidemiology.* 2005;16(4):469-77.
223. Tsai H-J, Hong X, Chen J, Liu X, Pearson C, Ortiz K, et al. Role of African ancestry and gene-environment interactions in predicting preterm birth. *Obstet Gynecol.* 2011;118(5):1081-9.
224. Wang X, Zuckerman B, Pearson C, Kaufman G, Chen C, Niu T, et al. Maternal Cigarette Smoking , Metabolic Gene Polymorphism, and Infant Birth Weight. *Gene.* 2002;287(2):195-202.

225. Annells MF, Hart PH, Mullighan CG, Heatley SL, Robinson JS, Bardy P, et al. Interleukins-1, -4, -6, -10, tumor necrosis factor, transforming growth factor-beta, FAS, and mannose-binding protein C gene polymorphisms in Australian women: Risk of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191(6):2056-67.
226. Goepfert AR, Varner M, Ward K, Macpherson C, Klebanoff M, Goldenberg RL, et al. Differences in inflammatory cytokine and Toll-like receptor genes and bacterial vaginosis in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193(4):1478-85.
227. Heinonen PK. Unicornuate uterus and rudimentary horn. *Fertil Steril.* 1997;68(2):224-30.
228. Lewis AD, Levine D. Pregnancy complications in women with uterine duplication abnormalities. *Ultrasound Q.* 2010;26(4):193-200.
229. Heinonen PK. Complete septate uterus with longitudinal vaginal septum. *Fertil Steril.* 2006;85(3):700-5.
230. Koike T, Minakami H, Kosuge S, Usui R, Matsubara S, Izumi A, et al. Uterine leiomyoma in pregnancy: its influence on obstetric performance. *J Obstet Gynaecol Res.* 1999;25(5):309-13.
231. Thangaratinam S, Tan A, Knox E, Kilby D, Franklyn J, Coomarasamy A. Association between thyroid autoantibodies and miscarriage and preterm birth: meta-analysis of evidence. *BMJ.* 2011;342:d2616.
232. Sukrat B, Wilasrusmee C, Siribumrungwong B, McEvoy M, Okascharoen C, Attia J, et al. Hemoglobin concentration and pregnancy outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Biomed Res Int.* 2013;2013:769057.
233. Morken NH, Källen K, Jacobsson B. Fetal growth and onset of delivery: A nationwide population-based study of preterm infants. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;195(1):154-61.

234. Goldenberg RL, Andrews WW, Faye-Petersen OM, Goepfert AR, Cliver SP, Hauth JC. The Alabama Preterm Birth Study: Intrauterine infection and placental histologic findings in preterm births of males and females less than 32 weeks. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;195(6):1533-7.
235. Goldenberg RL, Iams JD, Mercer BM, Meis PJ, Moawad A, Das A, et al. The Preterm Prediction Study: Toward a multiple-marker test for spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;185(3):643-51.
236. Bittar RE, Da Fonseca EB, De Carvalho MHB, Martinelli S, Zugaib M. Predicting preterm delivery in asymptomatic patients with prior preterm delivery by measurement of cervical length and phosphorylated insulin-like growth factor-binding protein-1. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;29(5):562-7.
237. Tsiartas P, Holst RM, Wennerholm UB, Hagberg H, Hougaard DM, Skogstrand K, et al. Prediction of spontaneous preterm delivery in women with threatened preterm labour: A prospective cohort study of multiple proteins in maternal serum. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2012;119(7):866-73.
238. Tanha F, Sardari F, Eftekhar Z, Kaveh M, Mood N. Predicting the risk of preterm labor by second trimester measurement of maternal alpha-fetoprotein levels and risk factor scoring system. *MJIRI.* 2005;19(2):127-30.
239. PerkinElmer. El nacimiento prematuro. Retos y oportunidades de la predicción y la prevención. [Internet]. Finlandia: PerkinElmer; 2009 [citado 1 de septiembre de 2016]. Disponible en: http://www.efcni.org/fileadmin/Daten/Web/Brochures_Reports_Factsheets_Position_Papers/Prevention_Perkin_Elmar/1244-9856_Perkin_Elmer_Spanish.pdf

240. Lim K, Butt K, Crane JM, Morin L, Bly S, Butt K, et al. Ultrasonographic Cervical Length Assessment in Predicting Preterm Birth in Singleton Pregnancies. *J Obstet Gynaecol Canada*. 2011;33(5):486-99.
241. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG practice bulletin no. 130: Prediction and Prevention of Preterm Birth. *Obstet Gynecol*. 2012;120(4):964-73.
242. Berghella V, Baxter J, Hendrix N. Cervical Assessment by Ultrasound for Preventing Preterm Delivery. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;(1):CD007235.
243. Miller ES, Tita AT, Grobman WA. Second-Trimester Cervical Length Screening Among Asymptomatic Women: An Evaluation of Risk-Based Strategies. *Obstet Gynecol*. 2015;126(1):61-6.
244. Conde-Agudelo A, Romero R. Predictive accuracy of changes in transvaginal sonographic cervical length over time for preterm birth: A systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol*. 2015;213(6):789-801.
245. Orzechowski KM, Nicholas SS, Baxter JK, Weiner S, Berghella V. A Universal Transvaginal Cervical Length Screening Program for Preterm Birth Prevention. *Am J Perinatol*. 2014;124(3):520-5.
246. Orzechowski KM, Boelig R, Nicholas SS, Baxter J, Berghella V. Is universal cervical length screening indicated in women with prior term birth? *Am J Obstet Gynecol*. 2015;212(2):234.e1-e5.
247. Berghella V, Lockwood C, Barss V. Cervical insufficiency [Internet]. Waltham (MA): UpToDate; 2016 [citado 18 de octubre de 2016]. Disponible en: <http://www.uptodate.com>

248. López Bernal A. Mechanisms of labour - Biochemical aspects. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2003;110(Suppl 20):39-45.
249. Arrowsmith S, Wray S. Oxytocin: Its mechanism of action and receptor signalling in the myometrium. *J Neuroendocrinol.* 2014;26(6):356-69.
250. Dole N, Savitz DA, Hertz-Picciotto I, Siega-Riz AM, McMahon MJ, Buekens P. Maternal Stress and Preterm Birth. *Am J Epidemiol Am J Epidemiol.* 2003;157(1):14-24.
251. Ding X-X, Wu Y-L, Xu S-J, Zhu R-P, Jia X-M, Zhang S-F, et al. Maternal anxiety during pregnancy and adverse birth outcomes: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *J Affect Disord.* 2014;159(81):103-10.
252. Zeitlin J, Ancel PY, Saurel-Cubizolles MJ, Papiernik E. The relationship between intrauterine growth restriction and preterm delivery: an empirical approach using data from a European case-control study. *BJOG.* 2000;107(6):750-8.
253. Korebrits C, Ramirez NM, Watson L, Al. E. Maternal CRH is increased with impending preterm birth. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(5):1585-91.
254. Zoumakis E, Makrigiannakis A, Margioris AN, Stournaras C, Gravanis A. Endometrial corticotropin-releasing hormone. Its potential autocrine and paracrine actions. *Ann N Y Acad Sci.* 1997;828:84-94.
255. Kota S, Gayatri K, Jammula S, Kota S, Krishna S, Meher L, et al. Endocrinology of parturition. *Indian J Endocrinol Metab.* 2013;17(1):50-9.
256. Grammatopoulos DK, Hillhouse EW. Role of corticotropin-releasing hormone in onset of labour. *Lancet.* 1999;354:1546-9.

257. Smith R, Mesiano S, Chan EC, Brown S, Jaffe RB. Corticotropin-releasing hormone directly and preferentially stimulates dehydroepiandrosterone sulfate secretion by human fetal adrenal cortical cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(8):2916-20.
258. Chakravorty A, Mesiano S, Jaffe R. Corticotropin-Releasing Hormone Stimulates P450 17 α -Hydroxylase/17,20-Lyase in Human Fetal Adrenal Cells via Protein Kinase C. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(10):3732-8.
259. McLean M, Bisits A, Davies J, Walters W, Hackshaw A, De Voss K, et al. Predicting risk of preterm delivery by second-trimester measurement of maternal plasma corticotropin-releasing hormone and alpha-fetoprotein concentrations. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;181(1):207-15.
260. Ramos GC. Inflammation as an animal development phenomenon. *Clin Dev Immunol.* 2012;2012:983203.
261. Van Meir CA, Sangha RK, Walton JC, Matthews SG, Keirse MJNC, Challis JRG. Immunoreactive 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase (PGDH) is reduced in fetal membranes from patients at preterm delivery in the presence of infection. *Placenta.* 1996;17(5-6):291-7.
262. Challis JR, Lye SJ, Gibb W, Whittle W, Patel F, Alfaidy N. Understanding preterm labor. *Ann N Y Acad Sci.* 2001;943:225-34.
263. Fortunato SJ, Menon R, Lombardi SJ. Role of tumor necrosis factor- α in the premature rupture of membranes and preterm labor pathways. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;187(5):1159-62.
264. Oner C, Schatz F, Kizilay G, Murk W, Buchwalder LF, Kayisli UA, et al. Progesterin-inflammatory cytokine interactions affect matrix metalloproteinase-1 and -3 expression

- in term decidual cells: Implications for treatment of chorioamnionitis-induced preterm delivery. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(1):252-9.
265. Lee SY, Buhimschi IA, Dulay AT, Ali UA, Zhao G, Abdel-Razeq SS, et al. IL-6 trans-signaling system in intra-amniotic inflammation, preterm birth, and preterm premature rupture of the membranes. *J Immunol.* 2011;186(5):3226-36.
266. Esplin MS, Merrell K, Goldenberg R, Lai Y, Iams JD, Mercer B, et al. Proteomic identification of serum peptides predicting subsequent spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;204(5):391.e1-e8.
267. Lee DC, Hassan SS, Romero R, Tarca AL, Bhatti G, Gervasi MT, et al. Protein profiling underscores immunological functions of uterine cervical mucus plug in human pregnancy. *J Proteomics.* 2011;74(6):817-28.
268. Salafia CM, López-Zeno J, Sherer DM, Whittington SS, Minior VK, Vintzileos AM. Histologic evidence of old intrauterine bleeding is more frequent in prematurity. *Am J Obstet Gynecol.* 1995;173(4):1065-70.
269. Buhimschi C, Schatz F, Krikun G, Buhimschi I, Lockwood C. Novel insights into molecular mechanisms of abruption-induced preterm birth. *Expert Rev Mol Med.* 2010;12:e35.
270. Mackenzie AP, Schatz F, Krikun G, Funai EF, Kadner S, Lockwood CJ. Mechanisms of abruption-induced premature rupture of the fetal membranes: Thrombin enhanced decidual matrix metalloproteinase-3 (stromelysin-1) expression. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191(6):1996-2001.
271. O'Sullivan CJ, Allen NM, O'Loughlin AJ, Friel AM, Morrison JJ. Thrombin and PAR1-activating peptide: Effects on human uterine contractility in vitro. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;190(4):1098-105.

272. Waldorf KMA, Singh N, Mohan AR, Young RC, Ngo L, Das A, et al. Uterine overdistention induces preterm labor mediated by inflammation: Observations in pregnant women and nonhuman primates. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;213(6):830.e1-e19.
273. Sooranna SR, Engineer N, Loudon JAZ, Terzidou V, Bennett PR, Johnson MR. The mitogen-activated protein kinase dependent expression of prostaglandin H synthase-2 and interleukin-8 messenger ribonucleic acid by myometrial cells: The differential effect of stretch and interleukin-1beta. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(6):3517-27.
274. Denney JM, Nelson EL, Wadhwa PD, Waters TP, Mathew L, Chung EK, et al. Longitudinal modulation of immune system cytokine profile during pregnancy. *Cytokine.* 2011;53(2):170-7.
275. Iáñez E. Curso de Inmunología General. Citoquinas. [Internet]. Universidad de Granada: Departamento de Microbiología; 1999. [citado 13 de septiembre de 2016]. Disponible en: https://www.ugr.es/~eianez/inmuno/cap_14.htm
276. Suárez A, Tejada R, Mozo L, Gutiérrez C, Peña J. Inmunología en línea. Citocinas y sus receptores [Internet]. Universidad de Córdoba: Asociación para el progreso de la inmunología; 2014. [citado 13 de septiembre de 2016]. Disponible en: <http://inmunologiaenlinea.es/index.php/03mmm-11>
277. Filella X, Molina R, Ballesta AM. Estructura y función de las citocinas. *Med Integr.* 2003;41(3):63-71.
278. McInnes I, Stiehm E, TePas E. Role of cytokines in the immune system [Internet]. Waltham (MA): UpToDate; 2016. [citado 2 de octubre de 2016]. Disponible en: <http://www.uptodate.com>

279. Carrasco L. Citoquinas: de fieles aliadas a temibles enemigas. An la Real Acad Ciencias Vet Andalucía Orient. 2011;24(1):75-90.
280. Aguirre de Avalos M, Quintana R, Brandan N. Citoquinas [Internet]. Universidad Nacional del Nordeste. Argentina: Cátedra de Bioquímica; 2002. [citado 13 de septiembre de 2016]. Disponible en: <http://www.uaz.edu.mx/histo/Biologia/FaiUnneAr/Pdf/Citoquinas.pdf>
281. Miossec P, Kolls JK. Targeting IL-17 and TH17 cells in chronic inflammation. Nat Rev Drug Discov. 2012;11(10):763-76.
282. Gaffen SL, Liu KD. Overview of interleukin-2 function, production and clinical applications. Cytokine. 2004;28(3):109-23.
283. Cano NF, Montoya CJ. Las quimioquinas: citoquinas proinflamatorias y reguladoras del tráfico celular. IATREIA. 2001;14(1):57-72.
284. Rollins B. Chemokines. Blood. 1997;90(3):909-28.
285. Alam R. Chemokines in allergic inflammation. J Allergy Clin Immunol. 1997;99(3):273-7.
286. Nickel R, Beck L a, Stellato C, Schleimer RP. Chemokines and allergic disease. J Allergy Clin Immunol. 1999;104(4 pt 1):723-42.
287. Challis JR, Lockwood CJ, Myatt L, Norman JE, Strauss JF, Petraglia F. Inflammation and pregnancy. Reprod Sci. 2009;16(2):206-15.
288. Poole JA, Claman HN. Immunology of Pregnancy. Implications for the Mother. Clin Rev Allergy Immunol. 2004;26:161-70.

289. Makhseed M, Raghupathy R, El-Shazly S, Azizieh F, Al-Harmi J a, Al-Azemi MMK. Pro-inflammatory maternal cytokine profile in preterm delivery. *Am J Reprod Immunol.* 2003;49(5):308-18.
290. Gravett MG, Witkin SS, Haluska GJ, Edwards JL, Cook MJ, Novy MJ. An experimental model for intraamniotic infection and preterm labor in rhesus monkeys. *Am J Obstet Gynecol.* 1994;171(6):1660-7.
291. Conde-Agudelo A, Papageorgiou AT, Kennedy SH, Villar J. Novel biomarkers for the prediction of the spontaneous preterm birth phenotype: A systematic review and meta-analysis. *BJOG.* 2011;118(9):1042-54.
292. McLaren J, Taylor DJ, Bell SC. Prostaglandin E(2)-dependent production of latent matrix metalloproteinase-9 in cultures of human fetal membranes. *Mol Hum Reprod.* 2000;6(11):1033-40.
293. Christiaens I, Zaragoza DB, Guilbert L, Robertson SA, Mitchell BF, Olson DM. Inflammatory processes in preterm and term parturition. *J Reprod Immunol.* 2008;79(1):50-7.
294. Farina L. A Review of the Role of Proinflammatory Cytokines in Labor and Noninfectious Preterm Labor. *Biol Res Nurs.* 2005;6(3):230-8.
295. Álvarez-de-la-Rosa M, Rebollo F, Codoceo R, Gonzalez A. Maternal serum interleukin 1, 2, 6, 8 and interleukin-2 receptor levels in preterm labor and delivery. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2000;88(1):57-60.
296. Nadeau-Vallée M, Obari D, Quiniou C, Lubell WD, Olson DM, Girard S, et al. A critical role of interleukin-1 in preterm labor. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2016;28:37-51.

297. Osman I, Young A, Ledingham MA, Thomson AJ, Jordan F, Greer IA, et al. Leukocyte density and pro-inflammatory cytokine expression in human fetal membranes, decidua, cervix and myometrium before and during labour at term. *Mol Hum Reprod.* 2003;9(1):41-5.
298. Rauk P, Friebe Hoffmann U, Winebrenner L, Chiao J. Interleukin-6 Up-Regulates the Oxytocin Receptor in Cultured Uterine Smooth Muscle Cells. *AJRI.* 2001;45:148-53.
299. Sennström MKB, Brauner A, Lu Y, Granström LMM, Malmström AL, Ekman GE. Interleukin-8 is a mediator of the final cervical ripening in humans. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1997;74(1):89-92.
300. Sennström MB, Ekman G, Westergren-Thorsson G, Malmström A, Byström B, Endrésen U, et al. Human cervical ripening, an inflammatory process mediated by cytokines. *Mol Hum Reprod.* 2000;6(4):375-81.
301. Pfeffer K. Biological functions of tumor necrosis factor cytokines and their receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003;14(3-4):185-91.
302. Törnblom S, Klimaviciute A, Byström B, Chromek M, Brauner A, Ekman-Ordeberg G. 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):1-13.
303. Discacciati MG, Simoes JA, Silva MG, Marconi C, Brolazo E, Costa ML, et al. Microbiological characteristics and inflammatory cytokines associated with preterm labor. *Arch Gynecol Obstet.* 2011;283(3):501-8.
304. Park JW, Park KH, Lee SY. Noninvasive prediction of intra-amniotic infection and/or inflammation in women with preterm labor: various cytokines in cervicovaginal fluid. *Reprod Sci.* 2013;20(3):262-8.

305. Jung EY, Park JW, Ryu A, Lee SY, Cho SH, Park KH. Prediction of impending preterm delivery based on sonographic cervical length and different cytokine levels in cervicovaginal fluid in preterm labor. *J Obstet Gynaecol Res.* 2016;42(2):158-65.
306. Dubicke A, Fransson E, Centini G, Andersson E, Byström B, Malmström A, et al. Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in human preterm and term cervical ripening. *J Reprod Immunol.* 2010;84(2):176-85.
307. Woodworth A, Moore J, G'Sell C, Verdoes A, Snyder JA, Morris L, et al. Diagnostic accuracy of cervicovaginal interleukin-6 and interleukin-6:albumin ratio as markers of preterm delivery. *Clin Chem.* 2007;53(8):1534-40.
308. Hadži-Lega M, Markova AD, Stefanovic M, Tanturovski M. Interleukin 6 and fetal fibronectin as a predictors of preterm delivery in symptomatic patients. *Bosn J Basic Med Sci.* 2015;15(1):51-6.
309. Hadži-Lega M, Daneva Markova A, Stefanovic M, Tanturovski M. Combination of selected biochemical markers and cervical length in the prediction of impending preterm delivery in symptomatic patients. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2016;43(1):154-60.
310. Woodworth A, Grenache DG, Gronowski AM. Cervicovaginal interleukin-6 as a predictor of preterm birth in African American women. *Clin Chim Acta.* 2011;412(11-12):988-92.
311. Brik M, Antonio P, Perales-Puchalt A, Diago V, Perales A. Cervical interleukin-6 as a predictive test for preterm delivery in symptomatic women: Preliminary results. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011;155(1):14-8.
312. Laham N, Brennecke SP, Rice GE. Interleukin-8 release from human gestational tissue explants: the effects of lipopolysaccharide and cytokines. *Biol Reprod.* 1997;57(3):616-20.

313. Rizzo G, Capponi A, Vlachopoulou A, Angelini E, Grassi C, Romanini C. Ultrasonographic assessment of the uterine cervix and interleukin-8 concentrations in cervical secretions predict intrauterine infection in patients with preterm labor and intact membranes. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1998;12(2):86-92.
314. Sakai M, Ishiyama A, Tabata M, Sasaki Y, Yoneda S, Shiozaki A, et al. Relationship between cervical mucus interleukin-8 concentrations and vaginal bacteria in pregnancy. *Am J Reprod Immunol.* 2004;52(2):106-12.
315. Raiche E, Ouellet A, Berthiaume M, Rousseau É, Pasquier J-C. Short and inflamed cervix predicts spontaneous preterm birth (COLIBRI study). *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2014;27(10):1015-9.
316. De Dooy J, Colpaert C, Schuerwegh A, Bridts C, Van Der Planken M, Ieven M, et al. Relationship between histologic chorioamnionitis and early inflammatory variables in blood, tracheal aspirates, and endotracheal colonization in preterm infants. *Pediatr Res.* 2003;54(1):113-9.
317. Matoba N, Yu Y, Mestan K, Pearson C, Ortiz K, Porta N, et al. Differential Patterns of 27 Cord Blood Immune Biomarkers Across Gestational Age. *Pediatrics.* 2009;123(5):1320-8.
318. Romero R, Grivel JC, Tarca AL, Chaemsaihong P, Xu Z, Fitzgerald W, et al. Evidence of perturbations of the cytokine network in preterm labor. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;213(6):836.e1-e18.
319. Yoon BH, Romero R, Moon J Bin, Shim SS, Kim M, Kim G, et al. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;185(5):1130-6.

320. Figueroa R, Garry D, Elimian A, Patel K, Sehgal PB, Tejani N. Evaluation of amniotic fluid cytokines in preterm labor and intact membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2005;18(4):241-7.
321. Marconi C, De Andrade Ramos BR, Peraçoli JC, Donders GGG, Da Silva MG. Amniotic Fluid Interleukin-1 Beta and Interleukin-6, but not Interleukin-8 Correlate with Microbial Invasion of the Amniotic Cavity in Preterm Labor. *Am J Reprod Immunol.* 2011;65(6):549-56.
322. Kim S, Romero R, Lee J, Lee S, Park C, Park J, et al. The Frequency and Clinical Significance of Intra-amniotic Inflammation in Women With Preterm Uterine Contractility but Without Cervical Change: Do the Diagnostic Criteria for Preterm Labor Need to be Changed? *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012;25(8):1212-21.
323. Combs C, Gravett M, Garite T, Hickok D, Lapidus J, Porreco R, et al. Amniotic fluid infection, inflammation, and colonization in preterm labor with intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2014;210(2):125.e1-e15.
324. Lee SM, Park JS, Norwitz ER, Oh S, Kim EJ, Kim SM, et al. Mid-trimester amniotic fluid pro-inflammatory biomarkers predict the risk of spontaneous preterm delivery in twins: a retrospective cohort study. *J Perinatol.* 2015;35(8):542-6.
325. Cobo T, Palacio M, Navarro-Sastre A, Ribes A, Bosch J, Filella X, et al. Predictive value of combined amniotic fluid proteomic biomarkers and interleukin-6 in preterm labor with intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;200(5):499.e1-e6.
326. Kallapur SG, Presicce P, Senthamaraikannan P, Alvarez M, Tarantal AF, Miller LM, et al. Intra-Amniotic IL-1 Induces Fetal Inflammation in Rhesus Monkeys and Alters the Regulatory T Cell/IL-17 Balance. *J Immunol.* 2013;191(3):1102-9.

327. Puchner K, Iavazzo C, Gourgiotis D, Boutsikou M, Baka S, Hassiakos D, et al. Mid-trimester Amniotic Fluid Interleukins (IL-1 β , IL-10 and IL-18) as Possible Predictors of Preterm Delivery. *In Vivo (Brooklyn)*. 2011;25(1):141-8.
328. Gotsch F, Romero R, Kusanovic JP, Erez O, Espinoza J, Kim CJ, et al. The anti-inflammatory limb of the immune response in preterm labor, intra-amniotic infection/inflammation, and spontaneous parturition at term: a role for interleukin-10. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2008;21:529-47.
329. Achary KG, Mandal NN, Mishra S, Sarangi SS, Kar SK, Satapathy AK, et al. Maternal filarial infection: association of anti-sheath antibody responses with plasma levels of IFN-gamma and IL-10. *Parasitology*. 2013;140(5):598-603.
330. Weissenbacher T, Laubender RP, Witkin SS, Gangelmaier A, Schiessl B, Kainer F, et al. Diagnostic biomarkers of pro-inflammatory immune-mediated preterm birth. *Arch Gynecol Obstet*. 2013;287(4):673-85.
331. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet*. 2008;371:75-84.
332. Minckwitz G, Grischke E, Schwab S, Hettinger S, Loibl S, Aulmann M, et al. Predictive value of serum interleukin-6 and -8 levels in preterm labor or rupture of the membranes. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2000;79:667-72.
333. Isik Y, Celik H, Avci B, Tosun M, Bildircin D, Malatyaloğlu E, et al. Maternal serum interleukin-6 level in preterm labor. *Ginekol Pol*. 2013;84(5):368-72.
334. Ozgu-Erdinc AS, Cavkaytar S, Aktulay A, Buyukkagnici U, Erkaya S, Danisman N. Mid-trimester maternal serum and amniotic fluid biomarkers for the prediction of preterm delivery and intrauterine growth retardation. *J Obstet Gynaecol Res*. 2014;40(6):1540-6.

335. Bahar AM, Ghalib HW, Moosa RA, Zaki ZM, Thomas C, Nabri OA. Maternal serum interleukin-6, interleukin-8, tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma in preterm labor. *Acta Obs.* 2003;82(6):543-9.
336. Lyon D, Cheng CY, Howland L, Rattican D, Jallo N, Pickler R, et al. Integrated Review of Cytokines in Maternal, Cord, and Newborn Blood: Part I—Associations With Preterm Birth. *Biol Res Nurs.* 2009;11(4):371-6.
337. Chaemsaitong P, Romero R, Korzeniewski SJ, Martinez-Varea A, Dong Z, Yoon BH, et al. A Rapid Interleukin-6 Bedside Test for the Identification of Intra-amniotic Inflammation in Preterm Labor with Intact Membranes. *J Matern Neonatal Med.* 2016;29(3):349-59.
338. Bastek JA, Gómez LM, Elovitz MA. The role of inflammation and infection in preterm birth. *Clin Perinatol.* 2011;38(3):385-406.
339. Shobokshi a, Shaarawy M. Maternal serum and amniotic fluid cytokines in patients with preterm premature rupture of membranes with and without intrauterine infection. *Int J Gynaecol Obstet.* 2002;79(3):209-15.
340. Paternoster DM, Stella A, Gerace P, Manganelli F, Plebani M, Snijders D, et al. Biochemical markers for the prediction of spontaneous pre-term birth. *Int J Gynecol Obstet.* 2002;79(2):123-9.
341. Gargano JW, Holzman C, Senagore P, Thorsen P, Skogstrand K, Hougaard DM, et al. Mid-pregnancy circulating cytokine levels, histologic chorioamnionitis and spontaneous preterm birth. *J Reprod Immunol.* 2008;79(1):100-10.
342. Ruiz RJ, Jallo N, Murphey C, Marti CN, Godbold E, Pickler RH. Second trimester maternal plasma levels of cytokines IL-1Ra, Il-6 and IL-10 and preterm birth. *J Perinatol.* 2012;32(7):483-90.

343. Vogel I, Goepfert AR, Thorsen P, Skogstrand K, Hougaard DM, Curry AH, et al. Early second-trimester inflammatory markers and short cervical length and the risk of recurrent preterm birth. *J Reprod Immunol.* 2007;75(2):133-40.
344. Arababadi MK, Aminzadeh F, Hassanshahi G, Khorramdelazad H, Norouzi M, Zarandi ER, et al. Cytokines in Preterm Delivery. *Lab Med.* 2012;43(4):27-30.
345. Chau A, Markley JC, Juang J, Tsen LC. Cytokines in the perinatal period - Part II. *Int J Obstet Anesth.* 2016;26:48-58.
346. Jelliffe-Pawlowski LL, Ryckman KK, Bedell B, O'Brodovich HM, Gould JB, Lyell DJ, et al. Combined elevated midpregnancy tumor necrosis factor alpha and hyperlipidemia in pregnancies resulting in early preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2014;211(2):141.e1-e9.
347. Curry A, Vogel I, Drews C, Schendel D, Skogstrand K, Flanders W. Mid-Pregnancy Maternal Plasma Levels of Interleukin 2,6,and 12,Tumor Necrosis Factor-Alpha, Interferon-Gamma,and Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor and Spontaneous Preterm Delivery. *Acta Obs.* 2007;86(9):1103-10.
348. Peltier MR, Faux DS, Hamblin SD, Silver RM, Esplin MS. Cytokine production by peripheral blood mononuclear cells of women with a history of preterm birth. *J Reprod Immunol.* 2010;84(1):111-6.
349. Chow SSW, Craig ME, Jones CA, Hall B, Catteau J, Lloyd AR, et al. Differences in amniotic fluid and maternal serum cytokine levels in early midtrimester women without evidence of infection. *Cytokine.* 2008;44(1):78-84.

350. Goldenberg RL, Andrews WW, Mercer BM, Moawad AH, Meis PJ, Iams JD, et al. The preterm prediction study: granulocyte colony-stimulating factor and spontaneous preterm birth. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;182(3):625-30.
351. Goldenberg R, Goepfert A, Ramsey P. Biochemical markers for the prediction of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192(5 Suppl):S36-46.
352. Wang X, Hagberg H, Mallard C, Zhu C, Hedtjärn M, Tiger C-F, et al. Disruption of interleukin-18, but not interleukin-1, increases vulnerability to preterm delivery and fetal mortality after intrauterine inflammation. *Am J Pathol.* 2006;169(3):967-76.
353. Ekelund CK, Vogel I, Skogstrand K, Thorsen P, Hougaard DM, Langhoff-Roos J, et al. Interleukin-18 and interleukin-12 in maternal serum and spontaneous preterm delivery. *J Reprod Immunol.* 2008;77(2):179-85.
354. Shah J, Baxi B. Identification of biomarkers for prediction of preterm delivery. *JMS - J Med Soc.* 2016;30(1):3-14.
355. Pereira Tb, Thomaz E, Nascimento Frf, Santos Aps, Batista R, Bettiol H, et al. Regulatory Cytokine Expression and Preterm Birth: Case-Control Study Nested in a Cohort. *PLoS One.* 2016;11(8):e0158380.
356. American College of Obstetricians and Gynecologists, American Academy of Pediatrics committee on fetus and newborn. The Apgar Score. *Pediatrics.* 2015;136(4):820-2.
357. Salomon LJ, Alfirevic Z, Berghella V, Bilardo C, Hernandez-Andrade E, Johnsen SL, et al. Practice guidelines for performance of the routine mid-trimester fetal ultrasound scan. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011;37(1):116-26.

358. Hadlock F, Harrist R, Sharman R, Deter R, Park S. Estimation of fetal weight with the use of head, body and femur measurements-A prospective study. *Am J Obs Gynecol.* 1985;151:333-7.
359. Vintzileos A, Campbell W, Rodis J, Bors-Koefoed R, Nochimson D. Fetal weight estimation formulas with head, abdominal, femur and thigh circumference measurements. *Am J Obs Gynecol.* 1987;157:410-4.
360. Auger N, Hansen A V., Mortensen L. Contribution of maternal age to preterm birth rates in Denmark and Quebec, 1981-2008. *Am J Public Health.* 2013;103(10):33-8.
361. Auger N, Abrahamowicz M, Wynant W, Lo E. Gestational age-dependent risk factors for preterm birth: Associations with maternal education and age early in gestation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014;176(1):132-6.
362. Cottrill HM, Barton JR, O'Brien JM, Rhea DL, Milligan DA. Factors influencing maternal perception of uterine contractions. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;190(5):1455-7.
363. Lynch AM, Hart JE, Agwu OC, Fisher BM, West NA, Gibbs RS. Association of extremes of prepregnancy BMI with the clinical presentations of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2014;210(5):1-9.
364. Parker MG, FengXiu O, Pearson C, Gillman MW, Belfort MB, Hong XM, et al. Prepregnancy body mass index and risk of preterm birth: association heterogeneity by preterm subgroups. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2014;14(153):1-10.
365. Shaw GM, Wise PH, Mayo J, Carmichael SL, Ley C, Lyell DJ, et al. Maternal prepregnancy body mass index and risk of spontaneous preterm birth. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2014;28(4):302-11.

366. Saccone G B V. Folic acid supplementation in pregnancy to prevent preterm birth: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Obs Gynecol Reprod Biol.* 2016;199:76-81.
367. Mccarthy FP, Khashan AS, North RA, Rahma MB, Walker JJ, Baker PN, et al. Pregnancy loss managed by cervical dilatation and curettage increases the risk of spontaneous preterm birth. *Hum Reprod.* 2013;28(12):3197-206.
368. Oliver-Williams C, Fleming M, Wood AM, Smith GCS. Previous miscarriage and the subsequent risk of preterm birth in Scotland, 1980-2008: A historical cohort study. *BJOG.* 2015;122(11):1525-34.
369. Ramaeker DM, Simhan HN. Sonographic cervical length, vaginal bleeding, and the risk of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2012;206(3):224.e1-e4.
370. Hackney D, Glantz J. Vaginal bleeding in early pregnancy and preterm birth: systemic review and analysis of heterogeneity. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2011;24(6):778-86.
371. Van Baaren GJ, Bruijn MMC, Vis JY, Wilms FF, Oudijk MA, Kwee A, et al. Risk factors for preterm delivery: do they add to fetal fibronectin testing and cervical length measurement in the prediction of preterm delivery in symptomatic women? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015;192:79-85.
372. Facco FL, Simhan HN. Short ultrasonographic cervical length in women with low-risk obstetric history. *Obstet Gynecol.* 2013;122(4):858-62.
373. Pedretti MK, Kazemier BM, Dickinson JE, Mol BWJ. Implementing universal cervical length screening in asymptomatic women with singleton pregnancies: challenges and opportunities. *Aust New Zeal J Obstet Gynaecol.* 2017;1-7.

374. Van Der Ven J, Van Os MA, Kazemier BM, Kleinrouweler E, Verhoeven CJ, De Miranda E, et al. The capacity of mid-pregnancy cervical length to predict preterm birth in low-risk women: A national cohort study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2015;94(11):1223-34.
375. Christian LM, Porter K. Longitudinal changes in serum proinflammatory markers across pregnancy and postpartum: Effects of maternal body mass index. *Cytokine.* 2014;70(2):134-40.
376. Dubey P, Pandey K, Singh N, Bhagoliwal A, Sharma D. Role of maternal serum Chlamydia trachomatis IgG antibodies and serum C- reactive protein in preterm labour. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol.* 2014;3(1):195-8.
377. Torbé A, Czajka R. Proinflammatory cytokines and other indications of inflammation in cervico-vaginal secretions and preterm delivery. *Int J Gynecol Obstet.* 2004;87(2):125-30.
378. Gomez-Lopez N, Guilbert LJ, Olson DM. Invasion of the leukocytes into the fetal-maternal interface during pregnancy. *J Leukoc Biol.* 2010;88(4):625-33.
379. Romero R, Erez O, Espinoza J. Intrauterine Infection, Preterm Labor, and Cytokines. *J Soc Gynecol Investig.* 2005;12(7):463-5.
380. Torbé A, Czajka R, Kordek A, Rzepka R, Kwiatkowski S, Rudnicki J. Maternal serum proinflammatory cytokines in preterm labor with intact membranes: Neonatal outcome and histological associations. *Eur Cytokine Netw.* 2007;18(2):102-7.
381. Tency I. Inflammatory response in maternal serum during preterm labour. *FVV OBGYN.* 2014;6(1):19-30.
382. Romero R, Brody D, Oyarzun E, Mazor M, Wu Y, Hobbins J, et al. Infection and labor. III. Interleukin-1: A signal for the onset of parturition. *Am J Obs Gynecol.* 1989;160(5 Pt 1):1117-23.

383. Yoshimura K, Hirsch E. Effect of stimulation and antagonism of interleukin-1 signaling on preterm delivery in mice. *J Soc Gynecol Investig.* 2005;12(7):533-8.
384. Nejad VM, Shafaie S. Original Article The Association of Bacterial Vaginosis and Preterm Labor. *JPMA.* 2008;58(3):104-6.
385. Stevens AO, Chauhan SP, Magann EF, Martin RW, Bofill JA, Cushman JL, et al. Fetal fibronectin and bacterial vaginosis are associated with preterm birth in women who are symptomatic for preterm labor. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;190(6):1582-9.
386. Arnsón Y, Shoenfeld Y, Amital H. Effects of tobacco smoke on immunity, inflammation and autoimmunity. *J Autoimmun.* 2010;34(3):258-65.
387. Van Keulen H., Gomes A., Toffolo MC., Oliveira E., Silva L., Alves CCS, et al. Serum levels of nitric oxide and cytokines in smokers at the beginning and after 4 months of treatment for smoking cessation. *Int J Cardiol.* 2016;230:327-31.
388. Berghella V, Palacio M, Ness A, Alfirevic Z, Nicolaides KH, Saccone G. Cervical length screening for prevention of preterm birth in singleton pregnancy with threatened preterm labor: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials using individual patient-level data. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017;49:322-9.

X. ANEXOS

X.1. Anexo 1

CARMEN FERNÁNDEZ SÁNCHEZ, Presidenta del Comité de Ética de la Investigación de Centro Almería

CERTIFICA

Que este Comité evaluó en reunión celebrada el día 21 de diciembre de 2011, el Proyecto de Investigación titulado: **“Niveles maternos de 25-hidroxitamina D, progesterona, cortisol, y citoquinas en gestantes con amenaza de parto pretérmino: Estudio prospectivo comparativo con controles de la misma edad gestacional sin trabajo de parto y con gestantes a término en pródromos de parto”** y consideró que:

Se cumplían los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y que estaban justificados los riesgos y molestias previsibles para los sujeto.

La capacidad del investigador y los medios disponibles eran apropiados para llevar a cabo el estudio.

El alcance de las compensaciones económicas previstas no interferían con el respeto a los postulados éticos.

Y que este Comité aceptó y **APROBÓ** que dicho Estudio clínico fuera realizado en la Unidad de Ginecología del Complejo Hospitalario Torrecárdenas de Almería, por Dña. Ana M^a Fernández Alonso, como investigadora principal.

Lo que firmo en Almería, a 2 de mayo dos mil diecisiete.



Edo.: Carmen Fernández Sánchez

X.2. Anexo 2



Fundación Progreso y Salud
CONSEJERÍA DE SALUD Y BIENESTAR SOCIAL

BELÉN JIMÉNEZ OJEDA, Subdirectora Gerente de la Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud

CERTIFICA:

Que Dña. Ana María Fernández Alonso, es investigadora principal del proyecto de investigación con nº de exp.: PI-0487/2011, titulado: "Niveles maternos de 25-Hidroxivitamina D, progesterona, cortisol, y citoquinas en gestantes con amenaza de parto pretérmino: estudio prospectivo comparativo con controles de la misma edad gestacional sin trabajo de parto y con gestantes a término en pródromos de parto", financiado en la convocatoria de ayudas de la Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud para la financiación de la Investigación Biomédica y en Ciencias de la Salud en Andalucía para el año 2011.

Y para que así conste firma la presente en Sevilla, a 04 de enero de 2013



Fundación Progreso y Salud
CONSEJERÍA DE IGUALDAD, SALUD Y POLÍTICAS SOCIALES

BELÉN JIMÉNEZ OJEDA, Directora Línea I+D+i de la Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud

CERTIFICA:

Que D^{ña}. Alejandra M^ª Herrera Muñoz con _____ participa como investigador colaborador, en el proyecto de investigación financiado en la convocatoria de ayudas de la Fundación Pública Andaluza Progreso y Salud para la financiación de la Investigación Biomédica y en Ciencias de la Salud en Andalucía para el año 2011, con nº de exp.: PI-0487-2011, titulado: "Niveles maternos de 25-hidroxivitamina D, progesterona, cortisol, y citoquinas en gestantes con amenaza de parto pretérmino: Estudio prospectivo comparativo con controles de la misma edad gestacional sin trabajo de parto y con gestantes a término en pródromos de parto", cuyo investigador principal es D^{ña}. Ana María Fernández Alonso, según Resolución publicada el día 16 de mayo de 2012.

Y para que así conste firma la presente.

X.3. Anexo 3

Consentimiento informado

Documento informativo (con valor de consentimiento informado) sobre la participación en el estudio *“Niveles maternos de 25-Hidroxivitamina D, progesterona, cortisol y citoquinas en la amenaza de parto pretérmino”*.

Almería, FechaYo (Nombre y Apellidos)

Se me ha explicado y he leído el documento informativo que acompaña a este consentimiento (Información al Paciente)

He recibido suficiente información y he podido hacer las preguntas necesarias sobre el estudio *“Niveles maternos de 25-Hidroxivitamina D, progesterona, cortisol y citoquinas en la amenaza de parto pretérmino”*. El/la doctor/a me ha informado detalladamente de la naturaleza y objetivos de la investigación.

Comprendo que mi participación es voluntaria y soy libre de participar o no en el estudio.

Se me ha informado que todos los datos obtenidos en este estudio serán confidenciales y se tratarán conforme establece la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal 15/99.

Se me ha informado de que la información obtenida sólo se utilizará para los fines específicos del estudio, manteniendo en todo caso el anonimato de mis datos.

Deseo ser informado/a de mis datos personales que se obtengan en el curso de la investigación, incluidos los descubrimientos inesperados que se puedan producir, siempre que esta información sea necesaria para evitar un grave perjuicio para mi salud o la de mis familiares biológicos. Si No

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- Cuando quiera
- Sin tener que dar explicaciones
- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el proyecto titulado "*Niveles maternos de 25-Hidroxivitamina D, progesterona, cortisol y citoquinas en la amenaza de parto pretérmino*":

Estudio prospectivo comparativo con controles de la misma edad gestacional sin trabajo de parto".

Firma del paciente

Firma del facultativo

Hoja informativa

Hoja informativa del estudio *“Niveles maternos de 25-Hidroxivitamina D, progesterona, cortisol y citoquinas en la amenaza de parto pretérmino”*.

La amenaza de parto pretérmino presenta una elevada incidencia durante la gestación, lo que determina una mayor probabilidad de mortalidad perinatal. Asimismo, los recién nacidos que sobreviven presentan mayor riesgo de retraso psicomotor y trastornos neurológicos.

Por ello, necesitamos que nos autorice su entrada en el estudio. Durante el cual se le realizarán determinaciones de vitamina D, cortisol y progesterona dentro del protocolo normal de embarazo, así como, valoraciones ecográficas seriadas.

Todos los datos obtenidos en este estudio serán confidenciales y se tratarán conforme establece la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal 15/99 y normas complementarias.

Los datos personales que se obtengan de la investigación, incluidos los descubrimientos inesperados que se puedan producir, se informarán al paciente, siempre que esta información sea necesaria para evitar un grave perjuicio para su salud o la de sus familiares biológicos.

Su participación será voluntaria y el hecho de no formar parte de esta investigación no supondrá ningún perjuicio para su seguimiento del embarazo, pudiendo abandonar el estudio cuando lo desee