

**UNIWERSYTET MEDYCZNY W POZNANIU
WYDZIAŁ LEKARSKI II**

**LEK. TOMASZ ŁUKASZEWSKI
GINEKOLOGICZNO-POŁOŻNICZY SZPITAL KLINICZNY W POZNANIU
KLINIKA PERINATOLOGII I CHORÓB KOBIECYCH**

**OCENA WYNIKÓW POŁOŻNICZYCH
W ZALEŻNOŚCI OD CZASU TRWANIA PĘKNIECIA
BŁON PŁODOWYCH**

**PROMOTOR:
PROF. DR HAB. KRZYSZTOF DREWS
KLINIKA PERINATOLOGII I CHORÓB KOBIECYCH
UNIWERSYTET MEDYCZNY W POZNANIU**

POZNAŃ 2013

SPIS TREŚCI

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW	4
1. WSTĘP	6
1.1. Etiologia i epidemiologia	7
1.1.1. Udział stanu zapalnego w etiologii PROM oraz PPRM	11
1.2. Rozpoznanie	12
1.3. Konsekwencje PPRM	14
1.3.1. Czas od pęknięcia błon płodowych do porodu	16
1.4. Postępowanie w przypadku PPRM	17
1.4.1. Postępowanie zachowawcze	17
1.4.2. Postępowanie aktywne	21
1.5. Wybrane cytokiny	23
1.5.1. Interlukina-6 (IL-6)	23
1.5.2. Czynn timer martwicy nowotworów alfa (TNF- α)	25
1.5.3. Czynn timer stymulujący tworzenie kolonii granulocytów (G-CSF)	25
1.5.4. sL-Selektyna	26
2. CEL PRACY	29
2.1. Badane cytokiny prozapalne	29
2.2. Badania laboratoryjne	29
2.3. Badany wynik położniczy matki	30
2.4. Badany wynik położniczy noworodka	30
3. MATERIAŁ I METODYKA	31
3.1. Charakterystyka pacjentek włączonych do badania	31
3.2. Kryteria włączenia do badania	33
3.3. Kryteria wyłączenia z badania	34
3.4. Kryteria podziału badanych pacjentek	34
3.5. Przebieg badania	41
3.6. Metodyka	42
3.7. Analiza statystyczna	50
4. WYNIKI	52
4.1. Podział I – grupy A i B (A – poród $\leq 48h$, B – poród $>48h$)	52
4.1.1. Wynik położniczy oraz wyniki badań laboratoryjnych matki	52
4.1.2. Wynik położniczy oraz wyniki badań laboratoryjnych noworodka	54
4.1.3. Badane cytokiny prozapalne	56
4.1.4. Analiza krzywych ROC w oparciu o podział na grupy A i B	60
4.2. Podział II – grupy C i D (C – noworodki bez cech zakażenia, D – noworodki z cechami zakażenia)	61
4.2.1. Wynik położniczy oraz wyniki badań laboratoryjnych matki	61
4.2.2. Wynik położniczy oraz wyniki badań laboratoryjnych noworodka	64
4.2.3. Badane cytokiny prozapalne	66
4.2.4. Analiza krzywych ROC w oparciu o podział na grupy C i D	70
4.3. Podział III – grupy E i F (E – pacjentki bez cech zakażenia, F – pacjentki z cechami zakażenia)	73

4.3.1.	Wynik położniczy oraz wyniki badań laboratoryjnych matki	73
4.3.2.	Wynik położniczy oraz wyniki badań laboratoryjnych noworodka	76
4.3.3.	Badane cytokiny prozapalne	78
4.3.4.	Analiza krzywych ROC w oparciu o podział na grupy E i F	82
5.	DYSKUSJA	85
5.1.	Konsekwencje wydłużenia okresu od pęknięcia błon płodowych do porodu	85
5.2.	Oznaczenie stężenia cytokin w surowicy krwi matki w prognozowaniu wystąpienia zakażenia u noworodka i matki	88
5.3.	sL-Selektyna w surowicy krwi noworodka jako marker wrodzonego zakażenia noworodka	95
5.4.	Oznaczenie stężenia CRP i leukocytów w surowicy krwi matki w prognozowaniu wystąpienia zakażenia u noworodka i matki	96
5.5.	Podsumowanie	99
6.	WNIOSKI	101
7.	PIŚMIENNICTWO	102
8.	STRESZCZENIE W J. POLSKIM	111
9.	STRESZCZENIE W J. ANGIELSKIM	116
10.	SPIS TABEL, RYCIN I WYKRESÓW	120

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

ACOG	American Congress of Obstetricians and Gynecologists
ACTH	adrenokortykotropina (<i>adrenocorticotropic hormone</i>)
BMI	wskaźnik masy ciała (<i>body mass index</i>)
CD34	składowa dopełniacza-34 (<i>cluster of differentiation-34</i>)
EDTA	kwas edetynowy (<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>)
EGF	nabłonkowy czynnik wzrostu (<i>epidermal growth factor</i>)
ELISA	test immunoenzymatyczny (<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>)
FHR	czynność pracy serca (<i>fetal heart rate</i>)
G-CSF	czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów (<i>granulocyte colony stimulating factor</i>)
GBS	paciorkowiec β -hemolizujący grupy B (<i>group B Streptococcus agalactiae</i>)
GlyCAM-1	komórkowa molekula adhezyjna zależna od glikozylacji (<i>glycosylation-dependent cell adhesion molecule-1</i>)
GPSK UM	Ginekologiczno-Położniczy Szpital Kliniczny Uniwersytetu Medycznego
HCA	histologiczne zapalenie błon płodowych (<i>histological chorioamnionitis</i>)
IAI	infekcja wewnątrzowodniowa (<i>intraamniotic infection</i>)
IL-10	interleukina-10 (<i>interleukin-10</i>)
IL-6	interleukina-6 (<i>interleukin-6</i>)
IL-8	interleukina-8 (<i>interleukin-8</i>)
JAK	kinaza Janusa (<i>Janus kinase</i>)
KTG	kardiotokografia (<i>cardiotocography</i>)
LAM-1	leukocytna molekula adhezyjna-1 (<i>leukocyte adhesion molecule-1</i>)
LECAM-1	lektynowa molekula adhezyjna-1 (<i>lectin adhesion molecule-1</i>)
LECCAM-1	komórkowa lektyno-podobna molekula adhezyjna-1 (<i>lectin-like cell adhesion molecule-1</i>)
MIAC	obecność drobnoustrojów w jamie owodni (<i>microbial invasion of the amniotic cavity</i>)
MMP-1	metaloproteinaza-1 (<i>metalloproteinase-1</i>)
MMP-2	metaloproteinaza-2 (<i>metalloproteinase-2</i>)
MMP-9	metaloproteinaza-9 (<i>metalloproteinase-9</i>)
NF-κB	czynnik jądrowy- κ B (<i>nuclear factor-κB</i>)

OION	oddział intensywnej opieki neonatologicznej (<i>neonatological intensive care unit</i>)
OUN	ośrodkowy układ nerwowy (<i>central nervous system</i>)
PAMG-1	mikroglobulina łożyskowa-1 (<i>placental alpha microglobulin-1</i>)
PAMP	wzorce molekularne związane z patogenami (<i>pathogen associated molecular patterns</i>)
PI3K/PK B	kinaza fosfatydylo-3-inozytolu/kinaza białek B (<i>phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B</i>)
PROM	przedwczesne pęknięcie błon płodowych (<i>premature rupture of membranes</i>)
PPROM	przedwczesne pęknięcie błon płodowych przed terminem (<i>preterm premature rupture of membranes</i>)
PRR	receptory rozpoznające wzorce (<i>pattern recognition receptors</i>)
Ras/MAPK	kinaza białek aktywowana Ras/mitogenem (<i>Ras/mitogen-activated protein kinase</i>)
RCOG	<i>Royal College of Obstetricians and Gynaecologists</i>
RDS	zespół zaburzeń oddychania (<i>respiratory distress syndrome</i>)
SGP-90	<i>sialo-podobna glikoproteina-90 (sialomucin-like glycoprotein-90)</i>
STAT	aktywator transkrypcji i czynnik przetwarzający sygnał (<i>signal transducer and activator of transcription</i>)
TLR	receptor toll-podobny (<i>toll-like receptors</i>)
TNF-α	czynnik martwicy nowotworów alfa (<i>tumor necrosis factor-alpha</i>)

1. WSTĘP

Przedwczesne pęknięcie błon płodowych – PROM (*premature rupture of membranes*) występujące z częstością 3–10% oraz przedwczesne pęknięcie błon płodowych przed terminem – PPROM (*preterm premature rupture of membranes*) dotyczące ok. 1–3% wszystkich ciąż i 30–40% przypadków porodu przedwczesnego nadal pozostaje istotnym problemem medycyny perinatalnej [2,7,13,27,52]. Etiologia PROM oraz PPROM jest wieloczynnikowa i nie została w całości wyjaśniona, jednak w przeważającej mierze za kluczowy w jej rozwoju uznawany jest czynnik infekcyjny. Obecność drobnoustrojów w jamie owodni stwierdzana jest w blisko połowie przypadków ciężarnych kobiet doświadczających przedwczesnego pęknięcia błon płodowych, jednakże nie u wszystkich z tych kobiet dochodzi do rozwoju zakażenia wewnątrzowodniowego [61,84,95]. Ponadto, niewiele więcej niż 10% kobiet z rozpoznaniem na podstawie badania histologicznego zakażeniem wewnątrzowodniowym prezentuje jego objawy kliniczne [61,84,95]. Przedwczesne pęknięcie błon płodowych wiąże się także z różną długością okresu od pęknięcia błon płodowych do porodu i nie w każdym przypadku subklinicznie toczący się proces zapalny zdąży przekształcić się w pełnoobjawowe zakażenie wewnątrzowodniowe. Konsekwencje niepowikłanego PPROM są poważne, a obecność dodatkowo jawnej klinicznie infekcji wewnątrzowodniowej wiąże się ze znaczącym wzrostem współczynnika zachorowalności i umieralności zarówno matki jak i noworodka. Wrodzone zakażenie płodu, które klinicznie u noworodka może manifestować się jako uogólniona bakteremia i posocznica, wrodzone zapalenie płuc lub wrodzone zakażenie miejscowe stwierdzone jest w 30–40% ciąż powikłanych przedwczesnym pęknięciem błon płodowych przed terminem, a zaledwie w 10–20% przypadków porodów przedwczesnych bez PPROM [4,69]. Podobnie zakażenie matki najczęściej obejmujące, w przypadku ciąży powikłanej PPROM, następujące sytuacje kliniczne: infekcja wewnątrzowodniowa lub zakażenia w okresie połogu (gorączka połogowa, zapalenie błon śluzowej jamy macicy czy zakażenie rany po cięciu cesarskim lub

nacięciu krocza) również stanowi poważne zagrożenie dla ciężarnej i/lub położnicy, a jego częstość wzrasta dodatkowo w przypadku przedłużenia okresu od pęknięcia błon płodowych do porodu [4,16,64].

Obecność drobnoustrojów patogennych, endotoksyn bakteryjnych, produktów ich przemiany materii oraz toczącego się procesu zapalnego w drogach rodnych pobudza układ immunologiczny ciężarnej. Zaktywowane makrofagi znajdujące się w doczesnej i łożysku uwalniają cały szereg cytokin prozapalnych, m.in. IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α oraz G-CSF. Początkowo wywołuje to miejscową reakcję zapalną, a dopiero w miarę nasilenia się tego procesu dochodzi do wzrostu stężenia cytokin w surowicy krwi ciężarnej. W kolejnym etapie dochodzi do wzrost osoczonego stężenia CRP w wyniku stymulacji jego syntezy w wątrobie, a na końcu dopiero pojawia się leukocytoza. L-Selektyna należy do grupy białek – Selektyn, które charakteryzują się podobną budową chemiczną i uczestniczą w procesie odpowiedzi organizmu na obecność patogenów. Wyniki badań dotyczących zmiany stężenia sL-Selektyny w tracie zakażenia mogą sugerować jej udział w modulowaniu reakcji zapalnej oraz jej potencjalne wykorzystanie jako wczesnego markera toczącego się subklinicznego stanu zapalnego. W literaturze postuluje się także możliwość wykorzystania oznaczenia stężenia w surowicy krwi kilku wybranych cytokin prozapalnych (IL-6, G-CSF, TNF-alfa) w diagnostyce subklinicznego zakażenia wewnątrzrodniowego oraz wrodzonego zakażenia noworodka.

1.1. EPIDEMIOLOGIA I ETIOLOGIA

Przedwczesne pęknięcie błon płodowych definiowane jest jako przerwanie ciągłości błon płodowych na minimum dwie godziny przed rozpoczęciem porodu. Jeśli do PROM dochodzi przed 37 tygodniem ciąży to rozpoznaje się przedwczesne pęknięcie błon płodowych przed terminem. Długotrwałe pęknięcie błon płodowych to każde pęknięcie błon płodowych, które wyprzedza początek porodu o minimum 24 godziny. Przedwczesne pęknięcie błon płodowych klasyfikowane jest także w zależności od okresu ciąży, w którym do niego doszło. Pęknięcie błon przed 24 tygodniem ciąży w piśmiennictwie anglojęzycznym określane jest mianem „Mid trimester PPRM”, pomiędzy 25 a 34 tygodniem ciąży „Early PPRM”, natomiast po 35 a przed 37 „Near term PPRM” [1].

Częstość PROM dotyczy około 3–10% wszystkich ciąż [7,13,27,52]. Przedwczesne pęknięcie błon płodowych przed terminem (PPROM) stwierdzone jest w 1 – 3% przypadków

i w zdecydowanej większości kończy się porodem przedwczesnym [7,13,27,52]. Co więcej, w przypadku 30-40% porodów przedwczesnych rozpoznawane jest PPRM [13]. Natomiast PPRM w drugim trymestrze ciąży dotyczy tylko 0,65% wszystkich ciąż [87].

Etiologia PPRM jest wieloczynnikowa i nie w pełni poznana. Uważa się, że fizjologiczne pęknięcie błon płodowych po 37 tygodniu ciąży jest konsekwencją postępującego osłabienia struktury błon płodowych, natomiast PPRM może być wynikiem wielu występujących samodzielnie lub nakładających się na siebie patologicznych procesów zachodzących na poziomie molekularno-komórkowym [66]. Ponadto pęknięcie błon płodowych o czasie jest najprawdopodobniej rezultatem działania powstającej w trakcie skurczu mięśnia macicy siły działającej na błony płodowe o zmniejszonej, fizjologicznie w tym okresie ciąży, wytrzymałości mechanicznej [26,49,56,68]. Ma to przede wszystkim związek z występującym po 28 tygodniu ciąży wzrostem napięcia błon płodowych oraz spadkiem jakości kolagenu tworzącego błony płodowe [91]. Uważa się, że wiek ciążowy, dojrzałość płodu oraz stan zdrowia ciężarnej mogą mieć istotny wpływ na etiologię PPRM. Wykazano, iż proces zapalny toczący się w obrębie jaja płodowego oraz błon płodowych (IAI – *intraamniotic infection*) istotnie zwiększa ryzyko wystąpienia PPRM [109]. Do pozostałych czynników ryzyka związanych ze zwiększoną częstością występowania PPRM należą: niski status socjoekonomiczny ciężarnej, krwawienie z dróg rodnych w drugim oraz trzecim trymestrze ciąży, BMI (*body mass index*) < 19,8, niedobór miedzi lub witaminy C, choroby tkanki łącznej, palenie tytoniu w trakcie ciąży, przebyta konizacja szyjki macicy, założenie szwu okrężnego na część pochwową szyjki macicy, infekcje układu oddechowego w trakcie ciąży, nadmierne rozciągnięcie macicy (np. ciąża wielopłodowa, wielowodzie) oraz przebyta amniopunkcja [31,34,37,61,67,72,90,96]. Zestawienie czynników ryzyka PPRM przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Czynniki ryzyka przedwczesnego pęknięcia błon płodowych przed terminem [16].

CZYNNIKI RYZYKA PPRM
MATYCZYNE
<ul style="list-style-type: none">- PPRM w poprzedniej ciąży- przedporodowe krwawienie z dróg rodnych- stosowanie steroidów w trakcie ciąży- wrodzone zaburzenia struktury kolagenu (np. zespół Ehlers-Danlos)- palenie papierosów- niedokrwistość- niedobór masy ciała (BMI < 19,8)- niedobór witaminy C i/lub miedzi- niski status socjoekonomiczny
MACICZNO-ŁOŻYSKOWE
<ul style="list-style-type: none">- wady anatomiczne macicy- przedwczesne oddzielenie łożyska- niewydolność cieśniowo-szyjkowa- przebyte zabiegi w obrębie szyjki macicy- skrócenie szyjki < 2,5 cm w drugim trymestrze ciąży- nadmierne rozciągnięcie macicy (wielowodzie, ciąża wielopłodowa)- bakteryjne zakażenie pochwy i/lub aktualnie toczące się zakażenie wewnątrzrodniowe
PŁODOWE
<ul style="list-style-type: none">- ciąża wielopłodowa

Argumentem przemawiającym za udziałem czynników genetycznych w etiologii przedwczesnego pęknięcia błon płodowych jest zwiększone ryzyko PROM u kobiet z dodatnim wywiadem w kierunku występowania tego powikłania położniczego w poprzedniej ciąży. W piśmiennictwie ryzyko wystąpienia PROM w kolejnej ciąży ocenia się na 16 do 32% [51]. W piśmiennictwie obecne są także prace sugerujące udział wybranych polimorfizmów genów receptorów Toll-podobnych (TLR – *toll-like receptors*) w etiologii przedwczesnego pęknięcia błon płodowych [44,54]. TLR są częścią podstawowego mechanizmu obrony organizmu przed infekcją – odporności wrodzonej, a ponadto są przykładem tzw. „receptorów rozpoznających wzorce” (PRR – *pattern recognition receptors*) rozpoznające grupowe struktury drobnoustrojów, co w efekcie wzmagają odpowiedź immunologiczną zaatakowanego organizmu. Uważa się, że ekspresję receptorów Toll-

podobnych wykazują m.in. komórki trofoblastu, co ma istotny związek z wpływem infekcji wewnątrzrodniowej na zwiększone ryzyko wystąpienia porodu przedwczesnego czy przedwczesnego pęknięcia błon płodowych. TLR typu 2 (TLR 2 – *toll-like receptor type 2*) oraz TLR typu 4 (TLR 4 – *Toll-like receptor type 4*) rozpoznają najczęstsze patogeny wywołujące zakażenie wewnątrzrodniowe (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* czy *Streptococci gr. B*). Przewaga występowania zmutowanego allela T polimorfizmu C8993T w genie TLR 4 w grupie kontrolnej zdrowych kobiet ciężarnych może sugerować jego ochronną rolę w stosunku do występowania przedwczesnego pęknięcia błon płodowych [54].

Wykazano, że poród przedwczesny, jak również poród przedwczesny powikłany wcześniejszym pęknięciem błon płodowych wiążą się ze zwiększonym ryzykiem powtórzenia się tej patologii w kolejnej ciąży. Ponad 1/4 kobiet (27,1%) z porodem przedwczesnym w wywiadzie (pomiędzy 23 a 27 tygodniem ciąży) urodzi przed terminem w kolejnej ciąży [62,65]. Ciężarne z tej samej grupy, u których zostanie stwierdzone przedwczesne pęknięcie błon płodowych mają 13,5% ryzyko porodu przedwczesnego powikłanego PPRM w kolejnej ciąży oraz kilkunastokrotnie większą szansę, że do PPRM dojdzie przed 28 tygodniem następnej ciąży. Autorzy tej samej pracy stwierdzili również, że czynniki ryzyka dla pierwiastek oraz wieloródek mogą być różne. W pierwszej ciąży do PPRM bardziej predysponuje praca fizyczna w trakcie ciąży, przedwczesna czynność skurczowa macicy, bakteryjna waginoza oraz niski indeks masy ciała, natomiast w kolejnych ciążach najistotniejsze znaczenie ma PPRM oraz poród przedwczesny w wywiadzie, dodatni wynik badania przesiewowego w kierunku obecności fibronektyny w wydzielinie pochwowej oraz niski BMI [62,65]. Skracanie się części pochwowej szyjki macicy (< 25 mm stwierdzone w przezpochwowym badaniu ultrasonograficznym) były niezależne od rodności uczestniczek badania. Blisko 17% ryzykiem PPRM charakteryzowały się pierwiastki z dodatnim wynikiem badania przesiewowego w kierunku obecności fibronektyny płodowej w wydzielinie pochwowej oraz ze skróconą częścią pochwową szyjki macicy w badaniu USG. Co czwarta wieloródka z tymi samymi czynnikami ryzyka oraz dodatnim wywiadem w kierunku PPRM doświadczała PPRM i miała 31 razy większe ryzyko urodzenia przed 35. tygodniem ciąży w porównaniu do ciężarnej bez powyższych czynników ryzyka [62,65].

1.1.1. UDZIAŁ STANU ZAPALNEGO W ETIOLOGII PROM ORAZ PPRM

Obecne w doczesnej, błonach płodowych oraz łożysku makrofagi mogą być aktywowane obecnością drobnoustrojów lub pojawieniem się produktów ich przemiany materii. Ich wzbudzenie skutkuje uwolnieniem licznych cytokin prozapalnych, głównie IL-1, IL-6 (interleukina-6), IL-8 (interleukina-8), IL-10 (interleukina-10) oraz TNF- α (czynnik martwicy nowotworów alfa). Zwiększone stężenie ww. cytokin w płynie okołokomórkowym stymuluje syntezę i wydzielanie przez okoliczne tkanki prostaglandyn mogących inicjować m.in. przedwczesną czynność skurczową macicy. Cytokiny, głównie IL-1 i IL-6, indukują także aktywność kolagenaz obecnych w szyjce macicy oraz błonach płodowych. Centralizacja oraz skracanie się szyjki macicy, zarówno w trakcie porodu o czasie, jak i podczas porodu przedwczesnego, uwarunkowane jest zmianą właściwości kolagenu oraz glikozaminoglikanów, związaną np. z obecnością reakcji zapalnej. Zaktywowane obecnością cytokin prozapalnych kolagenazy należące do rodziny metaloproteinaz oraz zdezaktywowane inhibitory tkankowe tych enzymów, odpowiedzialne są za proces przedwczesnego pęknięcia błon płodowych. Najważniejsze w tym mechanizmie wydaje się być działanie metaloproteinazy MMP-1 (metaloproteinaza-1), MMP-2 (metaloproteinaza-2) oraz MMP-9 (metaloproteinaza-9), dokonujących proteolitycznego rozkładu kolagenu typu I, II, III, IV, V, VII, X i elastyny. Aktywność enzymów proteolitycznych obecnych w błonach płodowych modulowana jest także przez trypsynę, elastazę neutrofilów oraz trombinę [5,7,24,92]. Jednakże udział zakażenia oraz lokalnej reakcji zapalnej w etiologii PROM nie jest jednoznaczny, a wiąże się to z faktem, iż obecność analogicznych patogenów w pochwie i/lub szyjce macicy u części ciężarnych prowadzi do przedwczesnego pęknięcia błon płodowych, a u pozostałych nie. Odgrywać tu może rolę osobniczo zmienny czynnik warunkujący odpowiedź tkanek jednostki maciczno-płodowej na lokalną obecność drobnoustrojów patogennych [5,7,24,92].

Obecność drobnoustrojów wewnątrz jamy owodni (MIAC – *microbial invasion of the amniotic cavity*) stwierdzana w prawie w połowie przypadków PPRM jest czynnikiem stymulującym wewnątrzowodniową reakcję zapalną [10,27,28]. Określone struktury patogenów (PAMP – *pathogen associated molecular patterns*), do których należą m.in. lipopolisacharydy bakterii Gram-ujemnych, fragmenty DNA grzybów czy odcinki wirusowego DNA, jak również uwolnione z rozpadających się tkanek białka rozpoznawane są przez receptory rozpoznające wzorce. Ich aktywacja w dalszym etapie wzmacnia odpowiedź wrodzoną zakażonego organizmu. Dodatkowo aktywacja powyższych receptorów prowadzi

pośrednio do wzrostu stężenia cytokin prozapalnych w płynie owodniowym oraz pobudzenia neutrofilii i innych komórek układu immunologicznego znajdujących się w ścianie macicy, łożysku i błonach płodowych. Nacieczenie łożyska oraz błon płodowych przez komórki obojętnochłonne nazywane jest według nomenklatury histopatologicznej zapaleniem błon płodowych (HCA – *histological chorioamnionitis*).

Za pomocą receptorów rozpoznających wzorce patogeny rozpoznawane są przez takie komórki układu immunologicznego jak komórki dendrytyczne, makrofagi, komórki tuczne, neutrofile, eozynofile czy limfocyty B. Przy udziale tych samych receptorów podobną funkcję mogą pełnić także komórki z poza układu odpornościowego, np. kardiomiocyty, komórki śródbłonka oraz komórki nabłonka. Ekspresję receptorów rozpoznających wzorce wykazują również komórki trofoblastu [3,40,55]. Spośród opisanych 13 typów receptorów rozpoznających wzorce największe znaczenie w etiopatogenezie przedwczesnego pęknięcia błon płodowych wydają się mieć receptory TLR 2 i TLR 4. Typ drugi odpowiedzialny jest za identyfikację charakterystycznych substancji znajdujących się na powierzchni bakterii Gram-dodatnich (np. peptydoglikan, kwas lipoteichoowy, poryny) oraz na powierzchni genitalnych gatunków mykoplazm i grzybów (zymosan). Typ czwarty natomiast pobudzany jest w obecności lipopolisacharydu (LPS – lipopolisacharyd), który jest endotoksyną stanowiącą integralny składnik zewnętrznej błony komórkowej osłony bakterii Gram-ujemnych (np. *Escherichia coli*) [3,40,55]. Zaktywowane receptory TLR uwalniają czynnik jądrowy transkrypcyjny- κ B (NF- κ B – *nuclear factor- κ B*), który wnikając do jądra komórkowego pobudza ekspresję genów odpowiedzialnych za syntezę cytokin prozapalnych, chemokin oraz substancji przeciwbakteryjnych. Do powstających w tym mechanizmie substancji należą interleukina-1, interleukina-6, interleukina-10, czynnik martwicy nowotworów alfa, a także działająca chemotaktycznie interleukina-8 oraz molekuly adhezyjne i peptydy o właściwościach antibakteryjnych (defenzyny) [3,40,55].

1.2. ROZPOZNANIE

Przedwczesne pęknięcie błon płodowych definiowane jest jako przerwanie ciągłości błon płodowych na minimum dwie godziny przed rozpoczęciem porodu. Jeśli do PROM dochodzi przed 37 tygodniem ciąży to rozpoznaje się przedwczesne pęknięcie błon płodowych przed terminem. Długotrwałe pęknięcie błon płodowych to każde pęknięcie błon płodowych, które wyprzedza początek porodu o minimum 24 godziny. Przedwczesne pęknięcie błon płodowych klasyfikowane jest także w zależności od okresu ciąży, w którym

do niego doszło. Pęknięcie błon przed 24 tygodniem ciąży w piśmiennictwie anglojęzycznym określane jest mianem „*Mid trimester PPROM*”, pomiędzy 25 a 34 tygodniem ciąży „*Early PPROM*”, natomiast po 35 a przed 37 „*Near term PPROM*” [2].

Większość przypadków przedwczesnego pęknięcia błon płodowych może zostać rozpoznana na podstawie wywiadu zebranego od ciężarnej i badania ginekologicznego. Powyższe badanie umożliwia stwierdzenie cech stanu zapalnego zlokalizowanego w pochwie i/lub szyjce macicy, pobranie materiału do badania bakteriologicznego, przybliżoną ocenę rozwarcia oraz stwierdzenie ewentualnego wypadnięcia części drobnych płodu lub pępowiny. Jeśli wynik badania ginekologicznego we wziernikach pochwowych nie umożliwia postawienia jednoznacznego rozpoznania, można ocenić odczyn pH śluzu pochwowego. Zasadowy charakter wydzieliny pochwowej w tylnym sklepieniu pochwy może stanowić pośredni dowód na obecność alkalicznego płynu owodniowego (pH 7,1-7,3) w fizjologicznie kwaśnym środowisku pochwy (pH 4,5-6,0). Metoda ta niestety obarczona jest dużym ryzykiem błędu, ze względu na możliwość zafałszowania wyniku badania poprzez użycie przez ciężarną zasadowych środków higieny osobistej, obecności bakteryjnej waginozy, nasienia lub krwi w pochwie. Innym narzędziem diagnostycznym może być test krystalizacji płynu owodniowego, który opiera się na obserwacji zmiany proporcji mukopolisacharydów i soli mineralnych w pobranej próbce [9,11]. Kolejną możliwością jest wykonanie badania mikroskopowego osadu płynu owodniowego, która polega na stwierdzeniu obecności elementów jaja płodowego (komórki nabłonka owodni, sznura pępowinowego) lub komórek płodu (komórki gruczołów łojowych czy naskórka płodu) w próbce pobranej z tylnego sklepienia pochwy. Metoda ta, ze względu na zmianę ilości i charakteru elementów płynu owodniowego w miarę trwania ciąży, sprawdza się najbardziej pod koniec ciąży [38,96]. Płodowe komórki oranżowe, pojawiające się w płynie owodniowym pomiędzy 28 a 30 tygodniem ciąży, są jednym z wykładników świadczących o dojrzałości płodu, a ich wykrycie w wydzielinie pochwowej umożliwia rozpoznanie z dużym prawdopodobieństwem przedwczesnego pęknięcia błon płodowych [96]. Badanie immunochromatograficzne przy użyciu przeciwciał monoklonalnych (AMNISURE TEST) wykrywających mikroglobulinę łożyskową alfa-1 (PAMG-1 – *placental alpha microglobulin-1*) odznacza się bardzo wysoką czułością (99%) i specyficznością (99%) przy dodatniej i ujemnej wartości predykcyjnej wynoszącej 99% [58]. Wykrywana w tym teście cząsteczka białka obecna jest w wydzielinie pochwowej znajdującej się w kanale szyjki macicy po pęknięciu błon płodowych. Minimalne wykrywalne stężenie badanego białka w wydzielinie pochwowej wynosi 5 ng/ml. Zaletą testu

jest łatwość wykonania badania, szybkość uzyskania wyniku (5–10 min.) oraz stosunkowo niewysoki koszt całej procedury [58]. W piśmiennictwie podaje się również metodę opartą na podaniu podczas amniopunkcji barwnika (*indigo carmine*, błękit Evansa lub fluoresceina) bezpośrednio do worka owodniowego i obserwację odpływania płynu owodniowego we wzornikach. Ze względu na inwazyjność tej techniki nie znalazła ona zastosowania w praktyce klinicznej [38,96]. Ręczne badanie ginekologiczne, jako istotny czynnik ryzyka zakażenia wewnątrzowodniowego, powinno być ograniczone do przypadków absolutnie koniecznych (ciążarna rodząca). W licznych badaniach wykazano, że badanie ginekologiczne istotnie zwiększa ryzyko infekcji wewnątrzowodniowej [11,12,53,70]. Badanie ultrasonograficzne płodu z oceną indeksu płynu owodniowego może być jedynie dodatkowym narzędziem diagnostycznym potwierdzającym zmniejszoną ilość płynu owodniowego [7,11,42,91].

1.3. KONSEKWENCJE PPRM

Konsekwencje PPRM są ściśle powiązane z wiekiem ciążowym, w którym dochodzi do przerwania błon płodowych, a skutki pęknięcia błon płodowych na początku drugiego trymestru ciąży będą zdecydowanie bardziej nasilone i częściej obserwowane, aniżeli w przypadku PPRM w 36 tygodniu ciąży.

Bez względu na wiek ciążowy, w którym dochodzi do wystąpienia PPRM, uważa się, że związane jest ono z 4-krotnym wzrostem śmiertelności oraz 3-krotnym wzrostem zachorowalności płodu (noworodka) [4,10,16,20].

Błony płodowe stanowią barierę dla drobnoustrojów znajdujących się w kanale rodym, a w momencie ich pęknięcia ryzyko zakażenia zarówno jaja płodowego, jak i tkanek macicznych drogą wstępującą wzrasta [16]. Część autorów uważa, że początek infekcji w przypadku ciąży powikłanej przedwczesnym pęknięciem błon płodowych może teoretycznie dotyczyć tylko jaja płodowego (np. niema klinicznie/subkliniczna infekcja wewnątrzowodniowa) lub być pierwotnie zlokalizowany w organizmie matki (np. bakteryjna waginoza) [9,91]. Niezależnie od miejsca, gdzie rozpoczyna się zakażenie, stanowi ono poważne zagrożenie zarówno dla matki jak i płodu.

Klinicznie niekorzystnym następstwem przedwczesnego pęknięcia błon płodowych może być zakażenie wewnątrzowodniowe, zapalenie błony śluzowej macicy, zakażenie

uogólnione ciężarnej i/lub położnicy czy wrodzone zakażenie noworodka [4,69]. Częstość zakażenia wewnątrzowodniowego w ciąży powikłanej PPRM w piśmiennictwie waha się od 13 do 60% i wzrasta wraz z długością okresu od pęknięcia błon płodowych do porodu oraz liczbą wykonywanych przezpochwowych badań ginekologicznych [4,16,64]. Natomiast połogowe zapalenie błony śluzowej macicy stwierdzane jest w 2–13% przypadków [4,16,64].

Inną konsekwencją PPRM opisywaną w piśmiennictwie są deformacje twarzy i kończyn płodu. Powikłanie to obserwuje się częściej w przypadku ciąży z długim okresem od pęknięcia błon płodowych do porodu i tych, w których do pęknięcia błon płodowych dochodzi na wcześniejszym etapie ciąży [16]. Ich częstość może wówczas dochodzić nawet do 12% [4,16].

Niedotlenienie płodu w przebiegu przedwczesnego pęknięcia błon płodowych najczęściej ma charakter mechanicznego ucisku na pępowinę, w konsekwencji zmniejszonej ilości lub całkowitego braku płynu owodniowego. Przerwanie ciągłości worka owodniowego wiąże się również ze zwiększonym ryzykiem wypadnięcia wolnej pętli pępowiny, głównie przy współistnieniu innego położenia płodu niż położenie podłużne główkowe, i prawie zawsze związane jest z zaburzeniami przepływu krwi przez sznur pępowinowy [91].

Do powikłań PPRM należy także hipoplazja płuc płodu związana z długotrwałym i wczesnie występującym niedoborem płynu owodniowego, a jej ryzyko w przypadku PPRM w drugim trymestrze ciąży, waha się w zależności piśmiennictwa, od 1 do 27% [32,69,102]. W ciąży powikłanej przedwczesnym pęknięciem błon płodowych częstość zespołu zaburzeń oddychania noworodka (RDS – *respiratory distress syndrome*) szacowana jest na 10–40% [4,10,20]. Co więcej za bezpośrednią przyczynę 40–70% zgonów noworodków z ciąży powikłanej PPRM uważany jest właśnie RDS [4,10,20].

Przedwczesne pęknięcie błon płodowych oraz zwiększone ryzyko zakażenia płodu skutkują wzrostem zaburzeń neurologicznych stwierdzanych u noworodków z ciąży powikłanej PPRM [4,94,108].

W PPRM pomiędzy 24 a 37 tygodniem ciąży ryzyko obumarcia wewnątrzmacicznego wynosi 1–2% [4,58]. W sytuacji PPRM stwierdzanym przed 24 tygodniem ciąży oraz w przypadku zastosowania postępowania wyczekującego przeżywalność płodów wynosi około 21% [23]. PPRM diagnozowane pomiędzy 24 a 26

tygodniem ciąży wiąże się z przeżywalnością na poziomie 57% [87]. Jeśli PPRM wystąpi w drugim trymestrze ciąży to częstość zgonu „in utero” w piśmiennictwie oceniana jest na 3,8–22% [10,64,69]. Ryzyko zgonu wewnątrzmacicznego w ciąży powikłanej przedwczesnym pęknięciem błon płodowych jest najniższe, gdy powikłanie to stwierdzone jest pomiędzy 30 a 36 tygodniem ciąży i wynosi 0,2% [18,59].

Do innych konsekwencji przedwczesnego pęknięcia błon płodowych należy: przedwczesne oddzielenie łożyska, które w takiej ciąży występuje z częstością 4-12% [11].

W badaniu histopatologicznym popłodu z ciąży powikłanej przedwczesnym pęknięciem błon płodowych częściej stwierdzone są zaburzenia struktury płyty łożyska oraz nieprawidłowy przyczep pępowiny, co następnie może być przyczyną zaburzeń w oddzielaniu się popłodu i zwiększonego ryzyka krwawienia zarówno w trzecim okresie porodu, jak i w okresie połogu [11,69].

W ciąży powikłanej PPRM częściej stwierdzone jest także nieprawidłowe położenie płodu (np. położenie podłużne miednicowe), co w konsekwencji oznacza wzrost odsetka porodów ukończonych operacyjnie [6].

1.3.1. CZAS TRWANIA PĘKNIĘCIA BŁON PŁODOWYCH

W analizie retrospektywnej Schuckera ponad połowa kobiet (57%), u których rozpoznano PPRM w drugim trymestrze ciąży, rodziła w przeciągu 7 dni od pęknięcia błon płodowych, a średni czas od pęknięcia błon płodowych do porodu wahał się od 10,6 do 21,5 dnia. W blisko jednej czwartej (22%) przypadków okres ten wydłużył się powyżej miesiąca [87].

Przedwczesne pęknięcie błon płodowych w ciąży donoszonej dotyczy około 3-10% ciężarnych [2,7,12,13,27,52,53]. W piśmiennictwie podaje się, że blisko połowa ciężarnych z rozpoznaniem PROM w ciąży donoszonej, u których wdrożono postępowanie wyczekujące urodzi w przeciągu 12 godzin, 70% w czasie 24 godzin, a 95% w okresie 72 godzin od pęknięcia błon płodowych [4,25,35].

1.4. POSTĘPOWANIE W PRZYPADKU PPRM

W przypadku rozpoznania przedwczesnego pęknięcia błon płodowych możliwe są dwie strategie postępowania: postępowanie zachowawcze i aktywne. Dobór odpowiedniego sposobu postępowania jest zależny od wieku ciążowego, w którym doszło do przedwczesnego pęknięcia błon płodowych.

1.4.1 POSTĘPOWANIE ZACHOWAWCZE

Przyjęcie zachowawczego sposobu postępowania w przypadku PPRM polega na hospitalizacji ciężarnej oraz cyklicznym monitorowaniu stanu matki i płodu, w celu jak najwcześniejszego wykrycia cech rozpoczynającego się zakażenia wewnątrzrodniowego. Do kryteriów klinicznych oraz laboratoryjnych umożliwiających rozpoznanie zakażenia wewnątrzrodniowego u ciężarnej zalicza się:

- a) temperatura ogólna ciała $>37,8^{\circ}\text{C}$,
- b) częstość matczynej czynności serca ≥ 100 uderzeń serca/min,
- c) częstość płodowej czynności serca – FHR ≥ 160 uderzeń serca/min,
- d) nieprawidłowy zapach płynu owodniowego,
- e) leukocytoza >15 G/l,
- f) przesunięcie obrazu rozmazu krwi obwodowej w stronę lewą – wzrost stężenia granulocytów obojętnochłonnych
- g) CRP ≥ 25 mg/l.

Badania (pomiar temperatury ogólnej ciała i tętna ciężarnej oraz zapis kardiokograficzny) powinny być wykonywane regularnie z częstością co 4 do 8 godzin [14,41,82]. Niestety żadna z dotychczas stosowanych metod diagnostycznych nie cechuje się wystarczająco wysoką czułością i specyficznością pozwalającą na odpowiednio wczesne wykrycie rozpoczynającej się infekcji wewnątrzrodniowej. W zależności od piśmiennictwa czułość wzrostu stężenia leukocytów we krwi obwodowej ciężarnej w rozpoznaniu IAI wynosi 29–47% przy 5–18% wyników fałszywie pozytywnych [41,82]. W przypadku białka C-reaktywnego (CRP) specyficzność waha się pomiędzy 38 a 55% [48,82,105]. Podobnie regularnie powtarzane co 7 dni badanie bakteriologiczne wydzieliny pochwowej pozwala na wykrycie zaledwie 53% przypadków IAI, przy 25% wyników fałszywie dodatnich [15,82]. Co ciekawe, w piśmiennictwie dodatnią wartość predykcyjną IAI w stosunku do tachykardii

plodowej w zapisie KTG (KTG – kardiokografia) oszacowano na jedynie 20 do 40%, przy poziomie wyników fałszywie pozytywnych 3% [15,41,82]. Autorzy wytycznych RCOG (*Royal College of Obstetricians and Gynaecologists*) podkreślają jednak fakt, że jeśli tachykardia jest już obecna w zapisie KTG, to raczej jest późnym objawem zakażenia wewnątrzodniowego [82]. Część autorów uważa spadek punktacji w teście biofizycznym płodu oraz nieprawidłowe przepływ krwi w tętnicy pępowinowej za markery IAI [15]. Jednak przydatność testu biofizycznego płodu w identyfikacji pacjentek z rozpoczynającym się zakażeniem wewnątrzodniowym oceniono na 30–80% przy 2–9% wyników fałszywie pozytywnych [15,82]. Według rekomendacji RCOG z 2010 roku w przypadku wyboru postępowania zachowawczego uzasadnione jest obserwowanie w warunkach szpitalnych ciężarnych z rozpoznaniem PPRM w kierunku objawów IAI oraz regularne wykonywanie zapisów KTG [82]. Nie znaleziono wystarczających dowodów na konieczność rutynowego regularnego powtarzania co 7 dni badania bakteriologicznego wydzieliny pochwowej, ani oceny leukocytozy matczynej i poziomu białka C-reaktywnego [41,48,82,105].

Oprócz hospitalizacji i obserwacji ciężarnej w kierunku wykładników IAI możliwe jest także podanie leków tokolitycznych, kortykosteroidów oraz zastosowanie profilaktycznej antybiotykoterapii [11].

Randomizowane badania na całkowitej grupie 235 ciężarnych z rozpoznaniem PPRM bez czynności skurczowej nie wykazały skuteczności stosowania rutynowo leków hamujących czynność skurczową macicy w przedłużeniu okresu od pęknięcia błon płodowych do porodu oraz w zmniejszeniu współczynnika śmiertelności noworodków. [40,82]. Z tego względu RCOG nie zaleca rutynowego stosowania leków hamujących czynność skurczową macicy u pacjentek z PPRM bez czynności skurczowej w momencie pęknięcia błon płodowych [82].

Badanie na grupie kobiet z PPRM po 28 tygodniu ciąży z czynnością skurczową w chwili pęknięcia błon płodowych nie wykazały istotniej statystycznie różnicy w długości okresu od pęknięcia błon do porodu pomiędzy grupami pacjentek otrzymującymi leki tokolityczne oraz tymi, którym ich nie podawano [106]. Podobne wyniki uzyskano badając grupę 79 pacjentek z PPRM oraz czynnością skurczową macicy, u których nie zaobserwowano wydłużenia czasu do porodu lub obniżenia współczynnika zachorowalności i śmiertelności noworodków po podaniu leków hamujących czynność skurczową macicy [55]. Prospektywne badanie na grupie 193 pacjentek z PPRM wykazało, że stosowanie leków

tokolitycznych przez wszystkie dni od momentu pęknięcia błon płodowych lub tylko przez 48 godzin w porównaniu z niestosowaniem ich w ogóle, nie przynosi znaczących różnic zarówno w długości okresu od pęknięcia błon płodowych, jak i nie wpływa istotnie na współczynnik zachorowalności lub śmiertelności noworodków [17]. W związku z powyższym RCOG nie zaleca także stosowania tokolizy w przypadku PPROM z towarzyszącą czynnością skurczową macicy [82]. Podobne stanowisko zostało zaprezentowane przez ACOG (*American Congress of Obstetricians and Gynecologists*) w 2007 roku, gdzie jednak podkreśla się fakt braku jednoznacznego konsensusu dotyczącego stosowania leczenia tokolitycznego w przypadku PPROM [4]. Autorzy tej pracy akcentują również brak badań, które pozwoliłyby na zdecydowane nie rekomendowanie stosowania leczenia tokolitycznego w przypadku PPROM niezależnie od obecności czynności skurczowej w momencie pęknięcia błon płodowych [4].

Mimo, iż stosowanie tokolizy nie posiada udowodnionej korzyści ani dla matki ani dla płodu, to jej zastosowanie w przypadku PPROM, z lub bez czynności skurczowej, stwarza potencjalną szansę na wdrożenie pełnego kursu steroidoterapii oraz przetransportowanie ciężarnej do wyższego ośrodka referencyjnego [16,17,63,75,107].

Jeśli zastosowanie leków hamujących czynność skurczową macicy w przypadku PPROM budzi wiele kontrowersji, tak korzyści z podania kortykosteroidów w tej sytuacji zostały jednoznacznie dowiedzione licznymi badaniami szeroko publikowanymi w piśmiennictwie. W zależności od długości trwania przedwczesnego pęknięcia błon płodowych wpływ tego powikłania na produkcję surfaktantu przez pneumocyty typu II płodu jest przeciwny. Uważa się, że przez pierwsze 48 godzin od PPROM infekcja wewnątrzodniowa poprzez wzrost stężenia cytokin prozapalnych pobudza uwalnianie adrenokortykotropiny (ACTH – *adrenocorticotropic hormone*) oraz kortyzolu, co w konsekwencji wzmacnia produkcję surfaktantu w płucach płodu. Powyżej tego okresu, zaczyna jednak dominować negatywny wpływ zwiększonego stężenia cytokin prozapalnych, które wraz z toksynami bakteryjnymi uszkodzają pneumocyty płodu i nasilają syntezę macierzy międzykomórkowej, powodując tym samym zwiększone ryzyko wystąpienia włóknienia tkanki płucnej płodu oraz dysplazji oskrzelowo-płucnej u noworodka [11].

Metaanaliza 15 randomizowanych prób klinicznych wykazała, że profilaktyczne zastosowanie kortykosteroidów w przypadku PPROM pomiędzy 24 a 34 tygodniem ciąży obniża prawie dwukrotnie ryzyko zespołu zaburzeń oddychania noworodka (RR 0,56; 95%CI 0,46–70) oraz krwotoku do komór mózgu (RR 0,47; 95% CI 0,31–0,70). Zmniejszeniu ulega

także ryzyko martwiczego zapalenia jelit (RR 0,21; 95% CI 0,05–0,82), zgonu noworodka (RR 0,68; 95% CI 0,43–1,07), a ponadto nie zwiększa możliwości wystąpienia infekcji zarówno u matki (RR 0,86; 95%CI 0,61–1,20), jak i u płodu (RR 1,05; 95%CI 0,66–1,68) [36]. Zastosowanie kursu kortykosteroidów w przypadku PPRM pomiędzy 24 a 34 tygodniem ciąży jest rekomendowane u każdej ciężarnej z tym powikłaniem [82]. ACOG zaleca podawanie 24 mg Betametazonu w dwóch dawkach podzielonych co 24 godziny lub 24 mg Deksametazonu w 4 dawkach podzielonych co 6 godzin [4]. Powyższy schemat podawania zmniejsza o 50% ryzyko zespołu zaburzeń oddychania, martwiczego zapalenia jelit oraz krwawienia do komór mózgu noworodków, gdy zostanie zastosowany w przypadku porodu przedwczesnego przed 34 tygodniem ciąży bez PPRM oraz przed 32 tygodniem ciąży z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych [4,19]. W piśmiennictwie nie ma jednoznacznych dowodów, na równie skuteczne działanie kortykosteroidów pomiędzy 32 a 34 tygodniem ciąży, jak również nie znaleziono wystarczających dowodów potwierdzających zasadność stosowania stymulacji dojrzałości płuc płodu po 34 tygodniu ciąży [16]. Mimo, iż pełny efekt terapeutyczny kortykosteroidów osiągany jest po minimum 24 godzinach od pierwszej dawki leku, to korzystne działanie ujawnia się już po 4–6 godzinach od podania [4,16,19,36]. Uważa się, że powyższe działanie leku utrzymuje się przez co najmniej 7 dni [4,16,19,36]. Nie jest rekomendowane powtarzanie kursu steroidoterapii, aczkolwiek zaleca się rozważenie takiego postępowania w przypadku, gdy stymulowano dojrzałość płuc płodu przed 28 tygodniem ciąży [4,16,64].

W sytuacji, gdy PPRM jest udowodnionym czynnikiem ryzyka zakażenia zarówno płodu (noworodka), jak i matki, stosowanie antybiotykoterapii w przypadku przedwczesnego pęknięcia błon płodowych wydaje się być oczywiste (w szczególności w przypadku postępowania zachowawczego). W metaanalizie 22 prób klinicznych uwzględniających łącznie 6800 par matka – noworodek stwierdzono, iż stosowanie w sytuacji PPRM antybiotyków zmniejsza ryzyko IAI o blisko 1/3 (RR 0,66, 95% CI 0,46–0,96) [43]. W wyniku stosowania antybiotyków spadkowi ulega również liczba porodów w okresie pierwszych 48 godzin od pęknięcia błon płodowych (RR 0,71, 95% CI 0,58–0,87) oraz wskaźnik zachorowalności noworodków. Ryzyko wystąpienia wrodzonego zakażenia noworodkowego wynosiło 0,67 (95% CI 0,52–0,82), konieczności stosowania surfaktantu 0,83 (95% CI 0,72–0,96), a ryzyko nieprawidłowego wyniku badania ultrasonograficznego ośrodkowego układu nerwowego noworodka w momencie wypisania ze szpitala 0,81 (95% CI 0,68–0,98) [43]. Autorzy tej publikacji stwierdzili także, iż spośród stosowanych

antybiotyków najbezpieczniejsze wydają się być: Ampicylina, Amoksycylina oraz Erytromycyna. Po zastosowaniu Amoksycyliny wraz z inhibitorem beta laktamaz (kwasem klawulonowym) obserwowano zwiększony odsetek martwiczego zapalenia jelit u noworodków (RR 4,72, 95% CI 1,57–14,23) [43]. Obecnie ACOG zaleca stosowanie 7-dniowej profilaktycznej antybiotykoterapii (Ampicylina, Amoksycylina lub Erytromycyna) u kobiet z PPRM, u których wdrożono postępowanie wyczekujące, w celu przedłużenia okresu od pęknięcia błon płodowych do porodu oraz zmniejszenia wskaźnika zachorowalności noworodków [4]. Stosowanie połączenia Amoksycyliny z kwasem klawulonowym jest przeciwwskazane [4]. Autorzy rekomendacji ACOG podkreślają także fakt konieczności wdrożenia okołoporodowej profilaktyki transmisji GBS (*group B Streptococcus agalactiae*), bez względu na zastosowanie profilaktycznej antybiotykoterapii PPRM [4]. RCOG opierając się na tych samych danych literaturowych, zaleca w sytuacji zdiagnozowania PPRM profilaktyczne wdrożenie 10 dniowego kursu Erytromycyny [82]. Autorzy obu prac są zgodni, co do konieczności stosowania okołoporodowej profilaktyki transmisji GBS [4,36,43,82].

1.4.2. POSTĘPOWANIE AKTYWNE

Pod pojęciem postępowania aktywnego rozumie się ukończenie ciąży w chwili stwierdzenia PPRM. Decyzja o wyborze postępowania wyczekującego lub aktywnego wymaga oceny ryzyka rozwoju zakażenia wewnątrzowodniowego w stosunku do konsekwencji wcześniactwa i niedojrzałości płodu [4,82].

W metaanalizie 12 badań uwzględniającej łącznie 6814 ciężarnych, dotyczącej wyboru sposobu postępowania w sytuacji PROM >36 tygodnia ciąży zauważono w przypadku postępowania aktywnego zmniejszone ryzyko wystąpienia IAI (RR 0,74, 95% CI 0,56–0,97) oraz połogowego zapalenia błony śluzowej macicy (RR 0,30, 95% CI 0,12–0,74) [21]. Nie stwierdzono jednak różnic pomiędzy obiema grupami w sposobie zakończenia ciąży (poród siłami natury vs. poród operacyjny) oraz w częstości wrodzonego zakażenia noworodka [21]. Autorzy tej pracy, zalecają indukcję porodu w przypadku PROM >36 tygodnia ciąży po przedstawieniu wyczerpującej informacji pacjentce. RCOG prezentuje podobne stanowisko w sytuacji PROM na tym etapie ciąży i zaleca rutynową indukcję porodu w każdej sytuacji PROM >36 tygodniu ciąży [82].

Inne podejście do problemu PPROM >34 tygodniu ciąży przedstawiają Aaron i wsp. w pracy z 2008, gdzie wobec wysokiego ryzyka wystąpienia IAI, braku korzyści zastosowania steroidoterapii po 34 tygodniu ciąży oraz niskiego ryzyka powikłań związanych z wcześniactwem, w przypadku PROM >34 tygodnia ciąży zalecają ukończenie ciąży w każdym przypadku. Co więcej, po potwierdzeniu dojrzałości płuc płodu rekomendowana jest indukcja porodu już od 32 tygodnia ciąży [16].

Mimo, iż w piśmiennictwie brak jest niestety jednoznacznych wyników badań dotyczących zasadności konkretnego postępowania w przypadku PPROM pomiędzy 34 a 37 tygodniem ciąży, to poniżej tego wieku ciążowego wyniki poszczególnych analiz wydają się być bardziej spójne. Neerhof i wsp. wykazali w pracy z 1999, że 34. tydzień ciąży jest czasem, powyżej którego wskaźnik zachorowalności noworodków wyraźnie spada [74]. W grupie 236 ciężarnych z rozpoznaniem PPROM pomiędzy 32 a 36 tygodniem ciąży, w przypadku których wdrożono postępowanie wyczekujące, długość pobytu noworodka w OION (oddział intensywnej opieki neonatologicznej) była statystycznie krótsza w przypadku porodu powyżej 34 tygodnia ciąży. Powyżej tego tygodnia ciąży rzadziej obserwowano także wykładniki zespołu zaburzeń oddychania u noworodków ($P=0,049$). Jednak już częstość wrodzonego zakażenia noworodka pomiędzy grupami była podobna i dotyczyła około 2% przypadków i była niezależna od wieku ciążowego [74].

W przypadku PPROM pomiędzy 30–34 tygodniem ciąży w badaniu przeprowadzonym na 129 ciężarnych, którym zostało losowo przydzielone postępowanie zachowawcze lub aktywne, stwierdzono częściej występujące zakażenie wewnątrzrodniowe w przypadku postępowania zachowawczego (15% vs. 2%) przy podobnym wskaźniku zachorowalności noworodków. W obu grupach częstość krwotoku do komór mózgu, martwiczego zapalenia jelit, posocznicy, zespołu zaburzeń oddychania oraz masa urodzeniowa noworodków były porównywalne. Na uwagę zasługuje fakt, iż pacjentkom włączonym do tego badania nie podawano leków hamujących czynność skurczową macicy, antybiotyków ani steroidów, co zdecydowanie zmniejsza korzyści płynące z wdrożenia postępowania zachowawczego. [18].

Dlatego RCOG rekomenduje postępowanie wyczekujące w każdym przypadku niepowikłanego PPROM < 34 tygodnia ciąży [82]. ACOG również nie zaleca indukcji porodu w przypadku przedwczesnego pęknięcia błon pomiędzy 24 a 31 tygodniem ciąży [4]. Poniżej

32 tygodnia ciąży wobec przeważających konsekwencji związanych z wcześniactwem nie zaleca się indukcji porodu w chwili stwierdzenia PPRM [104].

1.5. WYBRANE CYTOKINY

Obecność drobnoustrojów patogennych, endotoksyn bakteryjnych, produktów ich przemiany materii oraz toczącego się procesu zapalnego w drogach rodnych prowadzi do zaktywowania układu immunologicznego ciężarnej. Wzbudzone makrofagi znajdujące się w doczesnej i łożysku uwalniają liczne cytokiny prozapalne, m.in. IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 oraz G-CSF i TNF- α [76]. Pierwotnie wywołuje to reakcję zapalną o charakterze lokalnym, a następnie w miarę nasilenia się tego procesu dochodzi do wzrostu stężenia cytokin w surowicy krwi ciężarnej. W dalszym etapie dochodzi do zwiększenia osoczowego stężenia CRP w wyniku stymulacji jego syntezy w wątrobie, a dopiero na końcu pojawia się wzrost stężenia leukocytów [98]. Oznaczenie osoczowego stężenia IL-6, G-CSF oraz TNF-alfa mogłoby być wykorzystywane we wczesnej diagnostyce infekcji [11]. W piśmiennictwie podkreśla się także możliwość wykorzystania oznaczenia stężenia w surowicy krwi wybranych cytokin prozapalnych, m.in. IL-6, G-CSF czy TNF-alfa w diagnostyce subklinicznego zakażenia wewnątrzrodniowego oraz wczesnej posocznicy noworodkowej [1,11,51].

1.5.1. INTERLUKINA-6

Interleukina-6 jest cytokiną o wielokierunkowym działaniu, biorącą udział w licznych procesach biologicznych, do których zaliczyć można rozwój układu nerwowego i układu krwiotwórczego, odpowiedź ostrej fazy, stan zapalny oraz szeroko pojętą odpowiedź organizmu na obecność patogenów w [39].

Kodowana przez gen dla IL-6, cytokina ta składa się z 184 aminokwasów i formuje czterokrętną helisę [80]. U ludzi ma działanie zarówno nasilające stan zapalny, jak i ograniczającego go, które ujawnia się m.in. poprzez hamujący wpływ na TNF- α i IL-1. [85]. IL-6 jest także białkiem biorącym udział w regulacji procesu termoregulacji. Ma zdolność przenikania przez barierę krew-mózg, gdzie w podwzgórzu pobudza syntezę prostaglandyny E2 uczestniczącej w mechanizmie powstawania gorączki w trakcie infekcji. Dodatkowo w tkance tłuszczowej oraz mięśniach szkieletowych pobudza procesy kataboliczne odpowiedzialne za uwalnianie energii cieplnej [8].

Aktywacja filogenetycznie starszego układu immunologicznego, tj. odporności wrodzonej, może odbywać się poprzez połączenie specyficznych struktur pochodzących od drobnoustrojów z receptorami rozpoznającymi wzorce. W procesie tym dochodzi do pobudzenia makrofagów, które uwalniają liczne cytokiny prozapalne, w tym IL-6. Wzrost stężenia IL-6 obserwowany jest jednak nie tylko w wyniku pobudzenia układu odpornościowego przez obecność patogenów w organizmie, ale również w wyniku uszkodzenia mechanicznego lub termicznego tkanek. IL-6 produkowana jest także przez pracujące komórki mięśniowe, a jej stężenie rośnie w miarę zwiększenia intensywności wysiłku fizycznego, biorąc udział w procesie dostarczania substratów energetycznych niezbędnych do ich działania [79]. Cytokina ta uwalniana przez osteoblasty bierze również udział w procesie przebudowy (remodelingu) tkanki kostnej, w wyniku pobudzenia formowania się osteoklastów. Stanowi ogniwo pomiędzy przewlekłym stanem zapalnym a obserwowanym w tej sytuacji ubytkiem masy tkanki kostnej. Inhibitory IL-6 (np. estrogeny) hamują ten proces. IL-6 jako substancja prozapalna syntetyzowana przez komórki mięśniowe gładkie tworzące warstwę mięśniową ściany naczynia, bierze udział w stymulowaniu syntezy białek ostrej fazy oraz rekrutacji neutrofilów w szpiku kostnym. Wzmaga wzrost limfocytów typu B oraz obniża aktywność regulatorowych limfocytów T.

IL-6 w organizmie łączy się z kompleksem receptora cytokinowego typu pierwszego znajdującego się na powierzchni komórek. Składa się on z dwóch podjednostek: CD126 wiążącej cząsteczkę IL-6 oraz CD130 (gp130) będącej domeną przekazującą sygnał. Komponenta gp130 jest wspólna dla kilku cytokin: LIF (*leukemia inhibitory factor*), CNTF (*ciliary neurotrophic factor*), OSM (*oncostatin M*), IL-11 (interleukina-11), IL-27 (interleukina-27), czy CT-1 (*cardiotrophin-1*) i dlatego grupa tych białek określana jest w piśmiennictwie jako cytokiny podobne do IL-6 (*IL-6 like cytokines*). Aktywacja receptora IL-6 powoduje uruchomienie szeregu reakcji wewnątrzkomórkowych z udziałem JAK (*Janus kinase*) oraz STAT (*signal transducer and activator of transcription*) [38,85].

Obecnie uważa się, że IL-6 ma istotne znaczenie w etiopatogenezie wielu chorób, w tym cukrzycy, miażdżycy, depresji, chorobie Alzheimera, toczeniu układowym, raku prostaty, czy reumatoidalnym zapaleniu stawów. Oznaczenie stężenia IL-6 w surowicy krwi wykorzystywane jest również we wczesnej diagnostyce toczącego się zakażenia, przede wszystkim bakteryjnego [1].

1.5.2. CZYNNIK MARTWICY NOWOTWORÓW ALFA

Czynnik martwicy nowotworów alfa (TNF- α – *tumor necrosis factor alpha*) odkryty przez WB Coley w 1968 roku jest białkiem należącym do grupy cytokin biorących udział w aktywacji układu immunologicznego. Siedemnaście lat później po raz pierwszy sklonowano gen dla TNF- α znajdujący się na chromosomie 6 (6p21.3), którego produktem jest przezłonowe białko o długości 212 aminokwasów [47,76]. W wyniku działania specyficznych enzymów proteolitycznych (metaloproteinaza TNF- α) z kompleksu błonowego uwalniana jest rozpuszczalna postać tej cytokiny, jednak obie formy, związana z błoną komórkową oraz rozpuszczalna, zachowują swoją aktywność biologiczną [77]. TNF- α produkowany jest przez liczne komórki organizmu ludzkiego, w tym przez makrofagi, komórki limfoidalne, komórki tuczne, komórki śródbłonna, kardiomiocyty, komórki tkanki tłuszczowej, komórki tkanki łącznej oraz neurony. W efekcie pobudzenia układu immunologicznego przez obecność fragmentów bakterii (np. lipopolisacharydu) lub ich produktów przemiany materii, stężenie TNF- α wyraźnie wzrasta, głównie na skutek jego wydzielania przez zaktywowane makrofagi [103]. Działanie TNF- α na poszczególne narządy w wielu przypadkach pokrywa się z funkcją IL-6. Podobnie przenika przez barierę krew-mózg, gdzie moduluje ośrodek termoregulacji oraz uczestniczy w procesie powstawania gorączki w trakcie infekcji. Dodatkowo poprzez wpływ na inne ośrodki znajdujące się w podwzgórzu pobudza oś podwzgórze-przysadka-nadnercza do zwiększonej produkcji kortykotropiny oraz hamuje apetyt poprzez wpływ na ośrodek głodu i sytości. Uczestniczy również w regulacji odpowiedzi układu immunologicznego na obecność patogenów w tkankach organizmu poprzez stymulowanie odpowiedzi ostrej fazy, czego konsekwencją jest m.in. wzrost CRP produkowanego przez hepatocyty. Nasila przechodzenie komórek układu odpornościowego do miejsca obecności patogennych drobnoustrojów, głównie ze względu na swoje właściwości chemotaktyczne dla neutrofilii. Stymuluje makrofagi do fagocytozy, produkcji IL-1 oraz PGE₂ (prostaglandyna-E₂), biorącej udział w etiopatogenezie przedwczesnej czynności skurczowej macicy, a tym samym porodu przedwczesnego. W pozostałych tkankach zwiększa insulinooporność poprzez fosforylację reszty serynowej w receptorze insulinowym.

1.5.3. CZYNNIK STYMULUJĄCY TWORZENIE KOLONII GRANULOCYTÓW

Czynnik stymulujący kolonię granulocytów (G-CSF – *granulocyte colony-stimulating factor*) jest glikoproteiną odkrytą w 1983 roku u myszy, a w 1986 roku u ludzi [73,93]. Gen

kodujący to białko znajduje się w regionie 11 ramienia długiego chromosomu 17 (17q11.2-q12), a w jego skład wchodzi 4 introny [93]. U ludzi G-CSF występuje w dwóch formach, powstających jako produkt tego samego genu, jednak w zależności od sposobu usunięcia intronów z mRNA syntetyzowane są dwa podobne polipeptydy różniące się nieznacznie aktywnością biologiczną [93]. G-CSF jest cytokiną produkowaną przez liczne komórki organizmu, w tym komórki śródbłonna, makrofagi oraz cały szereg komórek układu immunologicznego. Zasadniczym efektem jej działania jest stymulacja szpiku kostnego do produkcji komórek macierzystych oraz syntezy i dojrzewania granulocytów, a następnie uwalnianie ich dojrzałych postaci do krwioobiegu [98]. Jej działanie możliwe jest dzięki obecności receptorów na komórkach prekursorowych szpiku kostnego [98]. G-CSF, podobnie jak IL-6, aktywuje szereg reakcji wewnątrzkomórkowych z udziałem JAK oraz STAT. Dodatkowo pobudzane są Ras/MAPK (*Ras/mitogen-activated protein kinase*) oraz PI3K/PKB (*phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B*). Czynniki te ponadto pobudzają proliferację i różnicowanie prekursorów neutrofilii oraz aktywność ich dojrzałych form [89]. Stymuluje także przyrost białych krwinek, co jest szeroko wykorzystywane u pacjentów w trakcie intensywnego leczenia onkologicznie lub z niedoborami odporności. Poza wpływem na układ hematopoetyczny, G-CSF poprzez receptory znajdujące się na komórkach nerwowych OUN pobudza neurogenezę, przeciwdziałając obumieraniu neuronów [81,86].

Syntetyczne formy G-CSF (nieznacznie modyfikowane w celu poprawienia parametrów farmakologicznych) wykorzystywane są w terapii wielu chorób. Lek ten podawany jest przed planowaną transplantacją szpiku, zarówno dawcom jak i biorcom [78]. Prowadzone są także badania nad wykorzystaniem G-CSF jako leku przydatnego w leczeniu choroby niedokrwiennej serca oraz po udarze mózgu [78]. W piśmiennictwie można także znaleźć publikacje sugerujące przydatność oznaczenia stężenia G-CSF w surowicy krwi jako wczesnego markera toczącego się zakażenia [11].

1.5.4. SL-SELEKTYNA

L-Selektyna należy do grupy białek - Selektyn, które charakteryzują się podobną budową chemiczną i uczestniczą w procesie odpowiedzi organizmu na obecność patogenów. Obecnie do rodziny Selektyn zalicza się L-Selektynę (CD62L), P-Selektynę (CD62P) oraz E-Selektynę (CD62E). Wszystkie typy tych białek zbudowane są z domeny lektynowej zależnej od wapnia (*NH2-terminal calcium-dependent lectin domain*), domeny podobnej do EGF (*EGF-like domain*, *EGF - Epidermal Growth Factor*), od 2–9 domen podobnych do CRP

(*CRP-like domains*), krótkiego odcinka przezbłonowego oraz krótkiej części wewnątrzkomórkowej [80,97]. Pod względem chemicznym Selektyny są glikoproteinami występującymi na powierzchni komórek układu immunologicznego, głównie leukocytów oraz na powierzchni komórek śródbłonna [80,97].

Najmniejszą z spośród Selektyn jest L-Selektyna o masie cząsteczkowej wynoszącej 70 – 100 kDa (7SL). W zależności od pozycji piśmiennictwa cząsteczka ta opisywana jest jako: leukocyte selectin, CD62L, LAM-1, LECAM-1, LECCAM-1, Leu-8, DREG, lymph node homing receptor czy MEL-14 antigen [45,80,97]. W piśmiennictwie opisuje się dwa typy L-Selektyny różniące się między sobą nieznacznie masą cząsteczkową, z których jedna występuje na powierzchni granulocytów obojętnochłonnych (90-100 kDa), natomiast druga na zewnątrz limfocytów (70 kDa) [80,97]. L-Selektyna należy do rodziny receptorów odgrywających istotną rolę w procesie interakcji pomiędzy limfocytami oraz komórkami śródbłonna [80]. Uczestniczy w procesie migracji limfocytów do obwodowych węzłów chłonnych oraz limfocytów i granulocytów obojętnochłonnych do miejsc objętych procesem zapalnym [45,80]. Przy współdziałaniu z P-Selektyną, L-Selektyna odpowiedzialna jest za inicjację adhezji leukocytów do komórek śródbłonna [94,95,96]. Dzięki obecności L-Selektyny na powierzchni niedojrzałych form limfocytów T możliwa jest ich migracja do węzłów chłonnych, gdzie dochodzi do ich dojrzewania i różnicowania w kierunku komórek efektorowych bądź komórek pamięci. Limfocyty T efektorowe nie wykazują już ekspresji L-Selektyny, co uniemożliwia im ponowne zasiedlanie tkanek układu limfatycznego [45].

Do cząsteczek łączących się L-Selektyną należą ligandy zawierające domeny mucynowe lub mucynopodobne wykazujące ekspresję przede wszystkim w węzłach chłonnych. W piśmiennictwie opisano trzy molekuly, z którymi może związać się L-Selektyna: GlyCAM-1 (*Glycosylation-dependent cell adhesion molecule-1*), CD34 (*sgp-90 - sialomucin-like glycoprotein-90*) oraz MAdCAM-1, (*mucosal vascular addressin cell adhesion molecule-1*) [42,83].

W wyniku aktywacji neutrofilów oraz limfocytów w trakcie reakcji zapalnej dochodzi do odłączenia cząsteczki L-Selektyny z ich powierzchni [45,80]. W piśmiennictwie sugeruje się, że dzięki tej reakcji możliwe jest przenikanie leukocytów przez ścianę naczyń [95,96]. Rozpuszczalna forma L-Selektyny – sL-Selektyna (soluble L-Selektyna) uwolniona z powierzchni leukocytów posiada masę cząsteczkową 62 kDa, natomiast odłączona z neutrofilów 75-100 kDa [42,83]. Wyniki badań dotyczących zmiany stężenia sL-Selektyny w trakcie

zakażenia mogą sugerować jej udział w modulowaniu reakcji zapalnej oraz jej potencjalne wykorzystanie jako wczesnego markera toczącego się subklinicznego stanu zapalnego [11,42,83].

2. CEL PRACY

Celem pracy była ocena wyników położniczych matki i noworodka w zależności od czasu trwania pęknięcia błon płodowych.

Cel pracy został zrealizowany poprzez oznaczenie stężeń wybranych cytokin prozapalnych u surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM oraz ≤ 12 godzin od porodu, sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka oraz poprzez ocenę wyników położniczych matki i noworodka.

2.1. BADANE CYTOKINY PROZAPALNE:

- a) u matki:
 - czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów – G-CSF,
 - interleukina 6 – IL-6,
 - czynnik martwicy nowotworów alfa – TNF- α .
- b) u noworodka:
 - sL-Selektyna.

2.2 BADANIA LABORATORYJNE:

- a) u matki:
 - stężenie CRP w surowicy krwi żyłnej w czasie ≤ 6 godzin od PPRM oraz ≤ 12 godzin od porodu,
 - stężenie leukocytów w surowicy krwi żyłnej w czasie ≤ 6 godzin od PPRM oraz ≤ 12 godzin od porodu.
- b) u noworodka:
 - stężenie CRP w surowicy krwi żyłnej w czasie ≤ 12 godzin od porodu,

- stężenie leukocytów w surowicy krwi żyłnej w czasie ≤ 12 godzin od porodu.

2.3. BADANY WYNIK POŁOŻNICZY MATKI:

- a) wiek ciążowy w momencie stwierdzenia PPRM oraz w chwili porodu,
- b) czas od PPRM do porodu,
- c) sposób zakończenia ciąży,
- d) wystąpienie zakażenia wewnątrzodniowego,
- e) wystąpienie zakażenia w okresie połogu (gorączka połogowa, zapalenie błony śluzowej macicy, zakażenie rany po nacięciu krocza, zakażenie rany po cięciu cesarskim).

2.4. BADANY WYNIK POŁOŻNICZY NOWORODKA

- a) punktacja w skali Apgar w pierwszej oraz piątej minucie życia,
- b) wartość pH żyłnej i tętniczej krwi pępowinowej,
- c) masa urodzeniowa noworodka,
- d) wystąpienie wrodzonego zakażenia noworodkowego (bakteriemia, posocznica, wrodzone zapalenie płuc, wrodzone zakażenie miejscowe),
- e) przyjęcie do Oddziału Neonatologicznego,
- f) długość czasu hospitalizacji,
- g) liczba dni wentylacji noworodka.

3. MATERIAŁ I METODYKA

3.1. CHARAKTERYSTYKA PACJENTEK WŁĄCZONYCH DO BADANIA

Badanie przeprowadzono w grupie 56 pacjentek, u których rozpoznano przedwczesne pęknięcie błon płodowych pomiędzy 30+0 a 36+6 tygodniem ciąży. Pacjentki do badania kwalifikowano w Klinice Perinatologii i Chorób Kobięcych GPSK UM oraz w Oddziale Porodowym GPSK UM w Poznaniu w okresie od stycznia 2012 do maja 2013. Pacjentki włączono do badania po szczegółowym wyjaśnieniu założeń badania oraz po uzyskaniu pisemnej zgody od ciężarnej. Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu nr 517/12.

Wszystkie ciężarne włączone do badania były rasy kaukaskiej. Ogólny stan zdrowia pacjentek był dobry bez współistniejących przewlekłych chorób ogólnoustrojowych. Żadna pacjentka nie była uzależniona od narkotyków, alkoholu lub papierosów. Czterdzieści jeden ciężarnych spośród 56 włączonych do badania było pierwiastkami, a 15 wieloródkami. Żadna z pacjentek włączonych do badania nie podawała w wywiadzie przebytego porodu przedwczesnego, a tylko 11 doświadczyło poronienia we wczesnej ciąży. Średni wiek pacjentek wynosił 29 lat, natomiast średni wiek ciążowy w momencie kwalifikacji do badania 34 tygodnie ciąży. Przeciętnie okres od pęknięcia błon płodowych do porodu trwał 5 dni, a do porodu dochodziło w większości przypadków w 35 tygodniu.

Żadna z ciężarnych nie prezentowała w badaniu podmiotowym oraz w podstawowym, internistycznym badaniu przedmiotowym objawów mogących sugerować toczące się aktualnie choroby infekcyjne. Pacjentki w chwili kwalifikacji do badania miały prawidłowy wynik pomiaru ciśnienia krwi oraz prawidłową temperaturę ogólną ciała. Stężenie leukocytów w surowicy krwi nie przekraczało 15,0 G/l, a średnie stężenie CRP było niższe

anizeli 10,00 mg/l. Częstość matczynej pracy serca u żadnej z pacjentek nie przekraczała 100 uderzeń/min., a wartość płodowej czynności serca była równa lub niższa niż 160 uderzeń/min. U zdecydowanej większości pacjentek rozpoznano przedwczesne pęknięcie błon płodowych na podstawie badania ginekologicznego przy pomocy jałowego wziernika pochwowego, a ponadto u żadnej ciężarnej nie stwierdzono nieprawidłowego zapachu płynu owodniowego. W sytuacji wątpliwej, co do wystąpienia przedwczesnego pęknięcia błon płodowych zastosowano szybki test z przeciwciałami monoklonalnymi wykrywającymi łożyskową alfa-mikroglobulinę 1 w wydzielinie pochwowej (test Amnisure).

Tabela 2. Charakterystyka pacjentek włączonych do badania.

	Wszystkie pacjentki włączone do badania (n=56)
Rasa	biała, kaukaska
Ogólny stan zdrowia w chwili kwalifikacji do badania	dobry
Brak współistniejących chorób ogólnoustrojowych	tak
Brak aktualnie toczących się chorób infekcyjnych	tak
Uzależnienia (narkotyki, alkohol, papierosy)	nie
Prawidłowa wartość ciśnienia tętniczego krwi w chwili kwalifikacji do badania	tak
Rodność: pierwiastki wieloródki poród przedwczesny w wywiadzie poronienia w wywiadzie	41 15 0 11
Wiek (lata) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	29 ± 4,54 29 19/42
Wiek ciąży w tyg. w momencie PROM średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	34 ± 2 35 30/36
Wiek ciąży w tyg. w momencie porodu średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	35 ± 2 35 31/38
Czas w dniach od PROM do porodu (doby) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	5 ± 9 2 1/57
Temperatura ogólna ciała w chwili kwalifikacji do badania (°C) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	36,8 ± 0,2 36,8 36,4/37,0
Stężenie leukocytów w surowicy krwi w momencie PROM (G/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	10,71 ± 2,91 11,02 2,0/15,00
Stężenie CRP w surowicy krwi w momencie PROM (mg/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	5,31 ± 4,8 3,52 0,90/10,00
Prawidłowy zapach płynu owodniowego	tak
Częstość pracy serca ciężarnej < 100 (uderzeń/min.)	tak
FHR w momencie PROM(uderzeń/min.) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	145 ± 10 145 120/160

3.2. KRYTERIA WŁĄCZENIA DO BADANIA

Pacjentki kwalifikowano do badania po spełnieniu kryteriów włączenia do badania:

1. Rozpoznanie przedwczesnego pęknięcia błon płodowych pomiędzy 30+0 a 36+6 tygodniem ciąży na podstawie badania klinicznego lub testu Amnisure.
2. Okres trwania przedwczesnego pęknięcia błon płodowych do momentu kwalifikacji do badania krótszy aniżeli 6 godzin.
3. Ciąża pojedyncza.
4. Wykluczenie obecności klinicznych oraz laboratoryjnych wykładników infekcji wewnątrzodniowej w chwili kwalifikacji do badania (temperatura ogólna ciała $\leq 37,0^{\circ}\text{C}$, leukocytoza $\leq 15 \text{ G/l}$, CRP $\leq 10 \text{ mg/L}$, częstość matczynej pracy serca < 100 uderzeń serca/min., częstość płodowej pracy serca – FHR ≤ 160 uderzeń serca/min, prawidłowy zapach płynu owodniowego).
5. Wykluczenie aktualnie toczących się chorób infekcyjnych u ciężarnych na podstawie badania podmiotowego oraz podstawowego, internistycznego badania przedmiotowego.
6. Wykluczenie współistniejących przewlekłych chorób ogólnoustrojowych.

Tabela 3. Kryteria włączenia do badania.

	Wszystkie pacjentki włączone do badania (n=56)
Brak współistniejących chorób ogólnoustrojowych	tak
Brak aktualnie toczących się chorób infekcyjnych	tak
Wiek ciążowy w tyg. w momencie PROM	
średnia (\pm SD)	34 \pm 2
mediana	35
minimum/maksimum	30/36
Temperatura ogólna ciała w chwili kwalifikacji do badania ($^{\circ}\text{C}$)	
średnia (\pm SD)	36,8 \pm 0,2
mediana	36,8
minimum/maksimum	36,4/37,0
Stężenie leukocytów w surowicy krwi w momencie PROM (G/l)	
średnia (\pm SD)	10,71 \pm 2,91
mediana	11,02
minimum/maksimum	2,10/15,00
Stężenie CRP w surowicy krwi w momencie PROM (mg/l)	
średnia (\pm SD)	5,31 \pm 4,8
mediana	3,52
minimum/maksimum	0,90/10,00
Prawidłowy zapach płynu owodniowego	tak
Częstość pracy serca ciężarnej < 100 (uderzeń/min.)	tak
FHR w momencie PROM(uderzeń/min.)	
średnia (\pm SD)	145 \pm 10
mediana	145
minimum/maksimum	120/160

3.3. KRYTERIA WYŁĄCZENIA Z BADANIA

Pacjentki dyskwalifikowano z udziału w badaniu po spełnieniu któregokolwiek z niżej wymienionych kryteriów:

1. Stwierdzenie podwyższenia wykładników stanu zapalnego sugerujących toczące się zakażenie wewnątrzodniowe (temperatura ogólna ciała $>37,0^{\circ}\text{C}$, leukocytoza ≥ 15 G/l, CRP $>10,00$ mg/l, częstość matczynej pracy serca ≥ 100 uderzeń serca/min., częstość płodowej pracy serca – FHR >160 uderzeń serca/min, nieprawidłowy zapach płynu owodniowego).
2. Rozpoznanie podczas wcześniejszych badań ultrasonograficznych wielowodzia.
3. Cięża wielopłodowa.
4. Stwierdzenie w badaniu ultrasonograficznym w chwili kwalifikacji do badania lub podczas wcześniejszych badań ultrasonograficznych wad wrodzonych płodu.
5. Pęknięcie błon płodowych trwające powyżej 6 godzin do momentu kwalifikacji do badania.
6. Stwierdzenie aktualnie toczących się innych chorób infekcyjnych u ciężarnej.
7. Stwierdzenie współistniejących przewlekłych chorób ogólnoustrojowych.

3.4. KRYTERIA PODZIAŁU BADANYCH PACJENTEK

Pacjentki włączone do badania zostały podzielone retrospektywnie według trzech kryteriów: długości okresu pęknięcia błon płodowych, wrodzonego zakażenia noworodka oraz zakażenia matki.

1. Pierwszy podział dotyczył długości okresu od pęknięcia błon płodowych do porodu:
 - a) grupa A – 29 pacjentek, które urodziły w przeciągu 48 godzin od pęknięcia błon płodowych,
 - b) grupa B – 27 pacjentek, u których poród odbył się w okresie powyżej 48 godzin od pęknięcia błon płodowych.
2. Drugiego podziału dokonano na podstawie stwierdzenia zakażenia wewnątrzodniowego u noworodka
 - a) grupa C – 39 pacjentek, u noworodków których nie stwierdzono cech zakażenia wewnątrzodniowego,

b) grupa D – 17 pacjentek, u noworodków których rozpoznano wrodzone zakażenie wewnątrzrodniowe.

3. Trzeci podział odnosił się do stwierdzenia zakażenia u ciężarnej i/lub położnicy:

a) Grupa E – 45 pacjentek, u których nie stwierdzono cech zakażenia wewnątrzrodniowego i/lub zakażenie w okresie połogu,

b) Grupa F – 11 pacjentek, u których wystąpiło zakażenie wewnątrzrodniowe i/lub zakażenie w okresie połogu.

Wiek ciąży obliczano na podstawie daty ostatniej miesiączki oraz na podstawie pierwszego badania ultrasonograficznego.

Przedwczesne pęknięcie błon płodowych diagnozowano na podstawie wywiadu oraz badania ginekologicznego przy użyciu jałowego wziernika dopochwowego i stwierdzenia ewidentnego odpływania płynu owodniowego. W sytuacjach niejednoznacznych podejrzenie przedwczesnego pęknięcia błon płodowych weryfikowano za pomocą szybkiego testu z przeciwciałami monoklonalnymi wykrywającymi łożyskową alfa-mikroglobulinę 1 w wydzielinie pochwowej (test Amnisure).

Zakażenie wewnątrzrodniowe u ciężarnej stwierdzano na podstawie wyników badania klinicznego oraz wyników badań dodatkowych:

a) temperatura ogólna ciała $>37,8^{\circ}\text{C}$,

b) częstość matczynej czynności serca ≥ 100 uderzeń serca/min.,

c) częstość płodowej czynności serca – FHR ≥ 160 uderzeń serca/min.,

d) nieprawidłowy zapach płynu owodniowego,

e) leukocytoza >15 G/l,

f) przesunięcie obrazu rozmazu krwi obwodowej w stronę lewą – wzrost stężenia granulocytów obojętnochłonnych,

g) CRP ≥ 25 mg/l.

Do grupy „zakażenie w okresie połogu” włączono pacjentki, u których w trakcie hospitalizacji stwierdzono:

a) gorączkę połogową,

- b) zapalenie błony śluzowej macicy,
- c) zakażenie rany po nacięciu krocza,
- d) zakażenie rany po cięciu cesarskim.

Gorączkę połogową rozpoznawano, gdy temperatura ogólna ciała położnicy w trakcie hospitalizacji (wyłączając dobę zerową) była wyższa aniżeli 38°C w co najmniej 4 pomiarach i utrzymywała się przez minimum 2 dni.

W przypadku dołączenia się dodatkowych objawów w postaci: bólu brzucha, obrony mięśniowej w dolnej części brzucha, powiększenia i tkliwości macicy oraz obecności cuchnących odchodów stwierdzano połogowe zapalenie błony śluzowej macicy.

Zakażenie rany po nacięciu krocza lub rany po cięciu cesarskim rozpoznawano w przypadku obecności (oprócz objawów ogólnoustrojowych związanych z toczącym się zakażeniem) w tych okolicach:

- a) zaczerwienia,
- b) wzmożonego ucieplenia,
- c) bolesności,
- d) obrzęku,
- e) ropnego wysięku.

Wrodzone zakażenie wewnątrzodniowe noworodka rozpoznawano w przypadku stwierdzenia w pierwszych trzech dobach życia (zakażenie bardzo wczesne i zakażenie wczesne noworodka):

- a) bakteriemii u noworodka,
- b) posocznicy noworodkowej,
- c) wrodzonego zapalenia płuc,
- d) wrodzonego zakażenia miejscowego: wrodzone zapalenie ucha środkowego, zapalenie spojówek lub kikuta pępownicy.

Bakterię noworodka rozpoznawano na podstawie dodatniego posiewu krwi przy braku objawów klinicznych zakażenia uogólnionego.

Posocznicę noworodkową stwierdzano w przypadku dodatniego wyniku posiewu krwi oraz stwierdzenia minimum trzech objawów klinicznych spośród niżej wymienionych:

- a) niechęć do ssania i zaleganie treści pokarmowej,
- b) hipotermia lub hipertermia bez zaburzeń perfuzji,
- c) tachykardia lub bradykardia,
- d) zwiększenie częstości oddechów,
- e) pojedyncze bezdechy,
- f) żółtaczka,

oraz uzyskania co najmniej trzech dodatnich wyników badań laboratoryjnych spośród niżej wymienionych:

- a) hiperglikemia >180 mg/dl lub hipoglikemia < 40 mg/dl,
- b) leukocytoza $>20,0$ G/l (z wyjątkiem pierwszych 7 dni życia) lub leukopenia $<4,0$ G/l,
- c) stosunek form niedojrzałych do całkowitej ilości neutrofilów $>0,2$,
- d) podwyższony wynik CRP.

Wrodzone zapalenie płuc diagnozowano, gdy u noworodka uwidoczono nowe lub postępujące zmiany w płucach o charakterze zagęszczeń, nacieków lub jam w badaniu radiologicznym klatki piersiowej oraz gdy stwierdzano co najmniej dwa z następujących objawów:

- a) bezdech lub przyspieszenie oddechów,
- b) bradykardia,
- c) duszność,
- d) rzęzenie,
- e) kaszel.

Do kryteriów dodatkowych wrodzonego zapalenia płuc należały:

- a) zwiększenie ilości wydzieliny w drogach oddechowych,
- b) pojawienie się ropnej wydzieliny w drogach oddechowych,
- c) dodatni wynik posiewu treści odessanej z tchawicy, popłuczyn oskrzelowych lub materiału pobranego z tkanki płucnej,

d) histologiczne objawy zapalenia płuc.

Wrodzone zakażenie miejscowe rozpoznawano na podstawie badania przedmiotowego noworodka.

Tabela 4. Charakterystyka badanych pacjentek – grupy A i B.

	Grupa A poród ≤ 48h	Grupa B poród > 48h	p
Wiek (lata) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	29 ± 4,9 29 19/42	30 ± 4,3 30 21/39	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Wiek ciążowy w tyg. w momencie PROM średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	35 ± 1,6 31 35/36	33 ± 2,1 33 30/36	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Wiek ciążowy w tyg. w momencie porodu średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	35 ± 1,6 31 35/37	34 ± 2,0 31 35/38	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Czas w dniach od PROM do porodu (doby) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	1 ± 0,5 1 1/2	10 ± 11,1 5 2/57	p<0,001 Mann-Whitney Rank Sum Test

Tabela 5. Charakterystyka badanych pacjentek – grupy C i D.

	Grupa C noworodki bez cech wrodzonego zakażenia	Grupa D noworodki z cechami wrodzonego zakażenia	p
Wiek (lata) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	30 ± 4,1 30 21/42	29 ± 5,7 28 19/39	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Wiek ciążowy w tyg. w momencie PROM średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	34 ± 1,6 34 30/36	33 ± 2,1 33 30/36	p<0,05 Mann-Whitney Rank Sum Test
Wiek ciążowy w tyg. w momencie porodu średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	35 ± 1,5 35 31/38	34 ± 2,0 34 31/36	p<0,05 Mann-Whitney Rank Sum Test
Czas w dniach od PROM do porodu (doby) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	6 ± 9,9 2 1/57	5 ± 5,7 2 1/20	ns Mann-Whitney Rank Sum Test

Tabela 6. Charakterystyka badanych pacjentek – grupy E i F.

	Grupa E pacjentki niezakażone	Grupa F pacjentki zakażone	p
Wiek (lata) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	29 ± 4,3 29 19/42	30 ± 5,9 29 21/39	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Wiek ciążowy w tyg. w momencie PROM średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	34 ± 1,8 35 30/36	33 ± 2,5 34 30/36	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Wiek ciążowy w tyg. w momencie porodu średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	35 ± 1,7 35 31/38	34 ± 2,0 35 31/36	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Czas w dniach od PROM do porodu (doby) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	4 ± 4,8 2 1/21	12 ± 16,2 4 1/57	p<0,001 Mann-Whitney Rank Sum Test

Tabela 7. Kryteria włączenia do badania – grupy A i B.

	Grupa A poród ≤ 48h	Grupa B poród > 48h	p
Brak współistniejących chorób ogólnoustrojowych	tak	tak	
Brak aktualnie toczących się chorób infekcyjnych	tak	tak	
Wiek ciążowy w tyg. w momencie PROM średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	35 ± 1,6 31 31/36	33 ± 2,1 33 30/36	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Temperatura ogólna ciała w chwili kwalifikacji do badania (°C) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	36,8 ± 0,2 36,8 36,4/37,0	36,8 ± 0,2 36,8 36,4/37,0	ns t-Test
Stężenie leukocytów w surowicy krwi w momencie PROM (G/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	10,45 ± 2,69 10,11 6,00/15,00	10,95 ± 3,22 11,12 2,00/15,00	ns t-Test
Stężenie CRP w surowicy krwi w momencie PROM (mg/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	4,31 ± 4,4 3,01 0,91/10,00	6,84 ± 6,33 4,16 1,15/10,00	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Prawidłowy zapach płynu owodniowego	tak	tak	
Częstość pracy serca ciężarnej < 100 (uderzeń/min.)	tak	tak	
FHR w momencie PROM (uderzeń/min.) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	145 ± 5 140 130/155	145 ± 10 145 120/160	ns t-Test

Tabela 8. Kryteria włączenia do badania – grupy C i D.

	Grupa C noworodki bez cech wrodzonego zakażenia	Grupa D noworodki z cechami wrodzonego zakażenia	<i>p</i>
Brak współistniejących chorób ogólnoustrojowych	tak	tak	
Brak aktualnie toczących się chorób infekcyjnych	tak	tak	
Wiek ciążowy w tyg. w momencie PROM średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	34 ± 1,6 34 30/36	33 ± 2,1 33 30/36	p<0,05 Mann-Whitney Rank Sum Test
Temperatura ogólna ciała w chwili kwalifikacji do badania (°C) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	36,9 ± 0,2 36,8 36,6/37,0	36,7 ± 0,2 36,6 36,4/37,0	ns t-Test
Stężenie leukocytów w surowicy krwi w momencie PROM (G/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	11,19 ± 2,85 12,00 6,00/15,00	9,55 ± 2,92 10,00 4,00/10,00	ns t-Test
Stężenie CRP w surowicy krwi w momencie PROM (mg/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	5,66 ± 5,66 4,01 0,87/10,00	5,25 ± 5,33 3,39 1,43/10,00	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Prawidłowy zapach płynu owodniowego	tak	tak	
Częstość pracy serca ciężarnej < 100 (uderzeń/min.)	tak	tak	
FHR w momencie PROM (uderzeń/min.) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	144 ± 1 145 120/160	143 ± 1 140 135/160	ns t-Test

Tabela 9. Kryteria włączenia do badania – grupy E i F.

	Grupa E pacjentki niezakażone	Grupa F pacjentki zakażone	<i>p</i>
Brak współistniejących chorób ogólnoustrojowych	tak	tak	
Brak aktualnie toczących się chorób infekcyjnych	tak	tak	
Wiek ciążowy w tyg. w momencie PROM średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	34 ± 1,8 35 30/36	33 ± 2,5 34 30/36	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Temperatura ogólna ciała w chwili kwalifikacji do badania (°C) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	36,8 ± 0,2 36,8 36,4/37,0	36,9 ± 0,2 36,8 36,8/37,0	ns t-Test
Stężenie leukocytów w surowicy krwi w momencie PROM (G/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	10,99 ± 2,18 11,00 6,00/15,00	9,48 ± 3,27 10,00 2,00/14,00	ns t-Test
Stężenie CRP w surowicy krwi w momencie PROM (mg/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	4,7 ± 4,4 3,2 0,91/10,00	8,9 ± 8,2 4,2 1,41/10,00	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Prawidłowy zapach płynu owodniowego	tak	tak	
Częstość pracy serca ciężarnej < 100 (uderzeń/min.)	tak	tak	
FHR w momencie PROM (uderzeń/min.) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	145 ± 5 140 130/155	145 ± 10 145 120/160	ns t-Test

3.5. PRZEBIEG BADANIA

U wszystkich pacjentek, które zostały włączone do badania, przeprowadzono wstępne badanie ginekologiczne przy użyciu jałowego wziernika pochwowego w celu potwierdzenia rozpoznania przedwczesnego pęknięcia błon płodowych oraz pobrania materiału z pochwy i/lub kanału szyjki macicy do badania bakteriologicznego. W przypadku niejednoznacznego potwierdzenia przedwczesnego pęknięcia błon płodowych wykonano test Amnisure. Następnie przeprowadzono podstawowe badanie internistyczne wykluczając aktualnie toczące się ewidentne choroby infekcyjne. Po spełnieniu wszystkich kryteriów włączenia do badania pobrano w przeciągu 6 godzin od pęknięcia błon płodowych krew z żyły odłokciowej celem oznaczenia stężenia w surowicy krwi wybranych cytokin prozapalnych (IL-6, TNF- α , G-CSF) oraz wykonano wybrane badania laboratoryjne (morfologia, CRP). Następnie ciężarne obserwowano w Oddziale Położniczo-Ginekologicznym I lub Oddziale Porodowym.

W sytuacji przedwczesnego pęknięcia błon płodowych, trwającego dłużej aniżeli 6 godzin, wdrożona została profilaktyczna antybiotykoterapia (Ampicylina 2x1,0 g i.v. lub Erytromycyna 4x0,3 g i.v. w przypadku uczulenia na penicyliny), którą kontynuowano do momentu porodu lub przez co najmniej 7 dni. W przypadku pacjentek, u których doszło do przedwczesnego pęknięcia błon płodowych przed ukończonym 34. tygodniem ciąży podano jednorazowy kurs steroidoterapii celem stymulacji dojrzałości płuc płodu oraz profilaktyki krwawień dokomorowych (Betametazon 2x12 mg i.m.). Przedwczesna czynność skurczowa macicy stwierdzana przed 35. tygodniem ciąży była wskazaniem do leczenia tokolitycznego (Fenoterol 0,5 mg i.v. w 50 ml 5% glukozy, 12 ml/h), które kontynuowano przynajmniej 48 godzin. U żadnej pacjentki nie stosowano profilaktycznego leczenia tokolitycznego.

Po stwierdzeniu cech rozpoczynającego się porodu lub wykładników zakażenia wewnątrzodniowego pacjentki przekazywane były do Oddziału Porodowego celem odbycia porodu lub operacyjnego ukończenia ciąży.

Po porodzie, w przeciągu 12 godzin, u wszystkich pacjentek ponownie oznaczono morfologię, stężenie CRP oraz stężenie badanych cytokin w surowicy krwi żyłnej. W tym samym czasie pobierano także krew włośniczkową noworodka celem oznaczenia stężenia leukocytów, CRP oraz sL-Selektyny.

W trakcie badania część pacjentek nie kwalifikowała się do udziału w dalszej analizie, ze względu na przekroczenie założonego limitu czasowego drugiego pobrania krwi. Znaczna grupa pacjentek wycofywała się również z udziału w badaniu, argumentując swoją decyzję niechęcią do narażania noworodka na dodatkowy stres poprzez wykonywanie nadliczbowych badań, wiążących się z pobraniem krwi. W związku z powyższym po podsumowaniu zebranego materiału okazało się, że z blisko 150 kobiet włączonych do badania zaledwie 56 pacjentek ukończyło go w sposób kompletny.

3.6. METODYKA

Wszystkie testy laboratoryjne oraz oznaczenia stężeń badanych białek wykonywane były w Centralnym Laboratorium Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego nr 3 w Poznaniu.

Pomiaru temperatury ogólnej ciała pacjentek dokonywano przy użyciu bezdotykowego termometru elektronicznego.

Morfologia krwi obwodowej oznaczana była z krwi żyłnej pobranej w ilości około 10ml do próbówki z dodatkiem EDTA (kwas edetynowy) przy użyciu metody cytometrii przepływowej oraz lasera półprzewodnikowego. Rozmaz krwi obwodowej oceniano metodą automatyczną.

Stężenie CRP oznaczano z krwi żyłnej pobranej do próbówki „na skrzep” metodą immunoturbidymetrii wzmocnionej cząstkami (Roche).

Test Amnisure wykonywano przy użyciu zestawu firmy Qiagen zgodnie z załączoną instrukcją wykonania testu. Jałową wymazówkę umieszczano w pochwie podczas rutynowego badania we wziernikach pochwowych na okres 60 sekund. Następnie próbkę płukano w dołączonym do zestawu buforze przez kolejne 60 sekund. Po tym czasie usuwano wymazówkę i umieszczano w fiolce test paskowy. Wyniki odczytywano po upływie 5-10 minut.

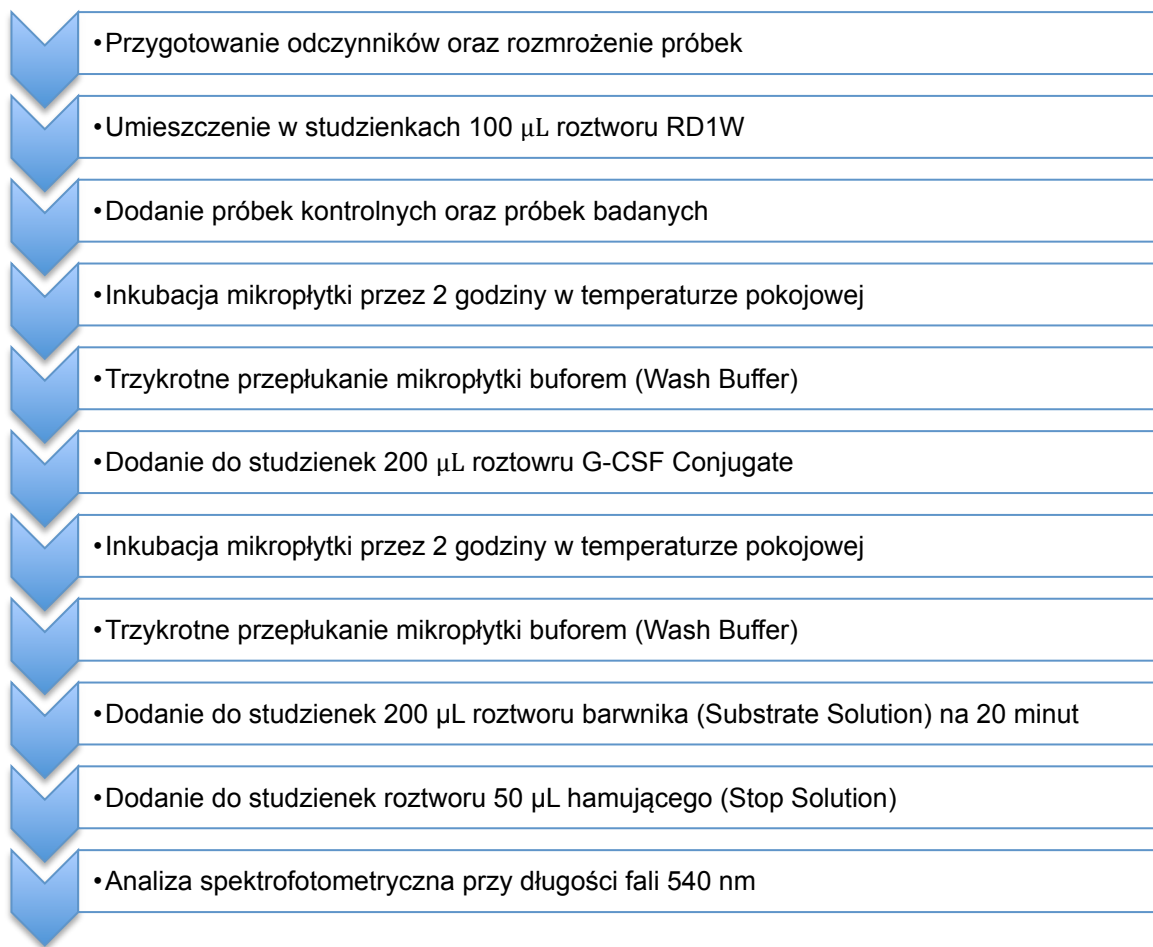
Oznaczenie badanych cytokin przebiegało w następujący sposób. Od każdej z pacjentek pobierano około 5 ml krwi z żyły odłokciowej, a od noworodka około 2-3 ml krwi włóścikowej do próbówki typu S-Monovette (Sarstedt, Niemcy) zawierającej aktywator krzepnięcia (krzemian). Proces krzepnięcia trwał około 30 minut, jednak nie dłużej niż godzinę w warunkach pokojowych. Surowicę uzyskiwano w wyniku odwirowania skrzepu krwi żyłnej (10 minut, 3500 rpm) w wirówce 5804R firmy Eppendorf (Niemcy). Po odwirowaniu surowica była przenoszona do 1,5 ml próbek typu Eppendorf i następnie przechowywana w temperaturze - 80°C do momentu wykonania badań immunoenzymatycznych. Pomiar stężenia białek w surowicy przeprowadzono stosując metodę immunoenzymatyczną ELISA (ang. *enzyme-linked immunosorbent assay*). Do oznaczeń wykorzystano zestawy firmy R&D Systems (Stany Zjednoczone): Human sL-Selectin/CD62L Immunoassay (numer katalogowy BBE4B), Human G-CSF Immunoassay (numer katalogowy DCS50), Human IL-6 Immunoassay (numer katalogowy HS600B) oraz Human TNF-Immunoassay (numer katalogowy HSTA00D). Zestawy składające się z mikropłytek polistyrenowych zawierających 96 studzienek (dołków) oraz z pełnego kompletu odczynników przechowywano w zalecanym przez producenta zakresie temperatur (2-8°C).

a) **G-CSF**

Test służący do oznaczenia stężenia G-CSF w surowicy krwi opierał się na

ilościowej metodzie kanapkowej.

W pierwszej kolejności przygotowano, zgodnie z instrukcją producenta, wszystkie niezbędne odczynniki oraz rozmrożono badane próbki. Następnie do wszystkich dołków na mikroplątce dodano 100 μ L roztworu RD1W zawierającego przeciwciała monoklonalne wiążące się z G-CSF. Następnie do studzienek z przeciwciałami dodawano za pomocą pipety próbki kontrolne oraz próbki badane (odwirowaną surowicę krwi żyłnej). Tak przygotowany materiał inkubowano w temperaturze pokojowej przez 2 godziny. Po tym czasie przepłukiwano trzykrotnie mikroplątkę buforem (Wash Buffer) w celu usunięcia wszystkich umieszczonych na niej substancji niezwiązanych z przeciwciałami. Po każdorazowym przepłukaniu płytki usuwano z niej płynną zawartość studzienek. Po ostatnim płukaniu dokładnie usuwano pozostałość bufora. Na tak przygotowaną mikroplątkę dodawano następnie do każdej ze studzienek 200 μ L poliklonalnego przeciwciała specyficznego dla G-CSF (G-CSF Conjugate), a później pozostawiano płytkę w temperaturze pokojowej na kolejne 2 godziny. Po tym czasie powtarzano procedurę wypłukiwania studzienek z pozostałości niezwiązanych przeciwciał przy użyciu tego samego bufora (Wash Buffer), co uprzednio. W dalszej kolejności umieszczano w każdej ze studzienek roztwór barwnika na dwadzieścia minut, a po tym czasie dodawano 50 μ L roztworu hamującego (Stop Solution). O prawidłowym przeprowadzeniu testu świadczyła zmiana koloru studzienek z niebieskiego na żółty. W zależności od ilości G-CSF w poszczególnej studzience uzyskiwano różne natężenie koloru, które mierzono metodą spektrofotometryczną przy długości fali 540 nm. Schemat oznaczenia stężenia G-CSF przedstawiono na rycinie 1.



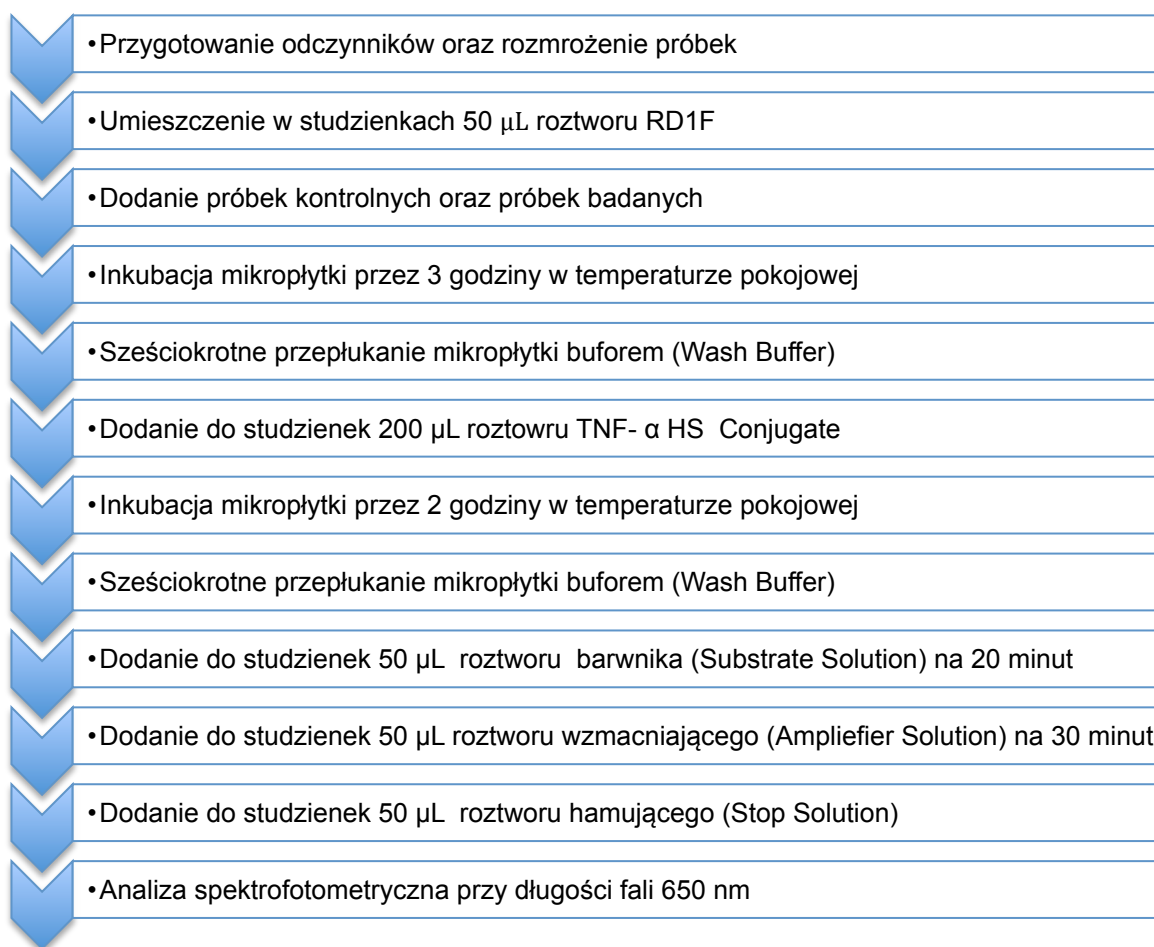
Ryc. 1. Schemat oznaczenia stężenia G-CSF w surowicy krwi żylniej.

b) **TNF- α**

Test służący do oznaczenia stężenia TNF- α w surowicy krwi opierał się na ilościowej metodzie kanapkowej.

W pierwszej kolejności przygotowano, zgodnie z instrukcją producenta, wszystkie niezbędne odczynniki oraz badane próbki. Następnie do wszystkich dołków na mikro płytce dodano 50 μ L roztworu RD1F zawierającego przeciwciała monoklonalne wiążące się z TNF- α . Następnie do studzienek z przeciwciałami umieszczano za pomocą pipety próbki kontrolne oraz próbki badane (odwirowaną surowicę krwi żylniej). Tak przygotowany materiał inkubowano w temperaturze pokojowej przez 3 godziny. Po tym czasie przepłukiwano sześciokrotnie mikro płytkę buforem (Wash Buffer) w celu usunięcia wszystkich umieszczonych na niej substancji nie związanych z przeciwciałami. Po każdorazowym przepłukaniu płytki usuwano z

niej płynną zawartość studzienek. Po ostatnim płukaniu dokładnie usuwano pozostałość bufora. Na tak przygotowaną mikroplótkę dodawano następnie do kaźdej ze studzienek 200 μL poliklonalnego przeciwciała specyficznego dla TNF- α (TNF- α HS Conjugate), a później pozostawiano plótkę w temperaturze pokojowej na kolejne 2 godziny. Po tym czasie powtarzano procedurę wypłukiwania studzienek z pozostałości niezwiązananych przeciwciał przy uźyciu tego samego bufora (Wash Buffer), co uprzednio. W dalszej kolejności umieszczano w kaźdej ze studzienek 50 μL roztworu barwnika (Substrate Solution) na 1 godzinę, następnie dodawano roztworu wzmacniającego (Amplifier Solution) na 30 minut i na koniec 50 μL roztworu hamującego (Stop Solution). W zaleźności od ilościi TNF- α w poszczególnej studzienke uzyskiwano róźne natęźenie koloru, które mierzono metodą spektrofotometryczną przy dłuźności fali 650 nm. Schemat oznaczenia stęźenia TNF- α przedstawiono na rycinie 2.

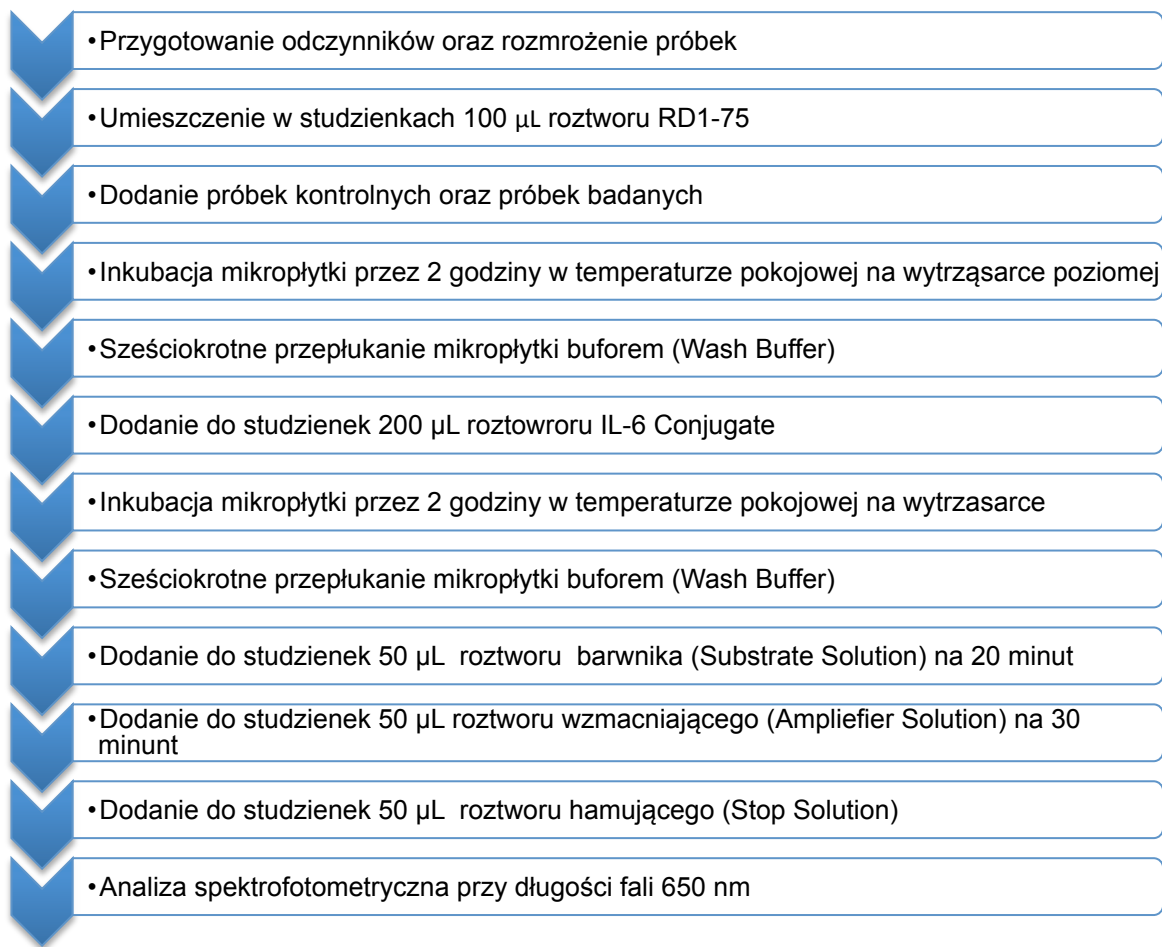


Ryc. 2. Schemat oznaczenia stęźenia TNF- α w surowicy krwi żyłnej.

c) **IL-6**

Test służący do oznaczenia stężenia IL-6 w surowicy krwi opierał się na ilościowej metodzie kanapkowej.

W pierwszej kolejności przygotowano, zgodnie z instrukcją producenta, wszystkie niezbędne odczynniki oraz badane próbki. Następnie do wszystkich dołków na mikropłytkę dodano 100 μL roztworu RD1-75 zawierającego przeciwciała monoklonalne wiążące się z IL-6. Następnie do studzienek z przeciwciałami dodawano za pomocą pipety próbki kontrolne oraz próbki badane (odwirowaną surowicę krwi żyłnej). Tak przygotowany materiał inkubowano w temperaturze pokojowej przez 2 godziny na poziomej wytrząsarce mikropłytek o orbitalnym ruchu wytrząsania (amplituda 0,12'') ustawionej na prędkość 500 ± 50 rpm. Po tym czasie przepłukiwano sześciokrotnie mikropłytkę buforem (Wash Buffer) w celu usunięcia wszystkich umieszczonych na niej substancji niezwiązanych z przeciwciałami. Po każdorazowym przepłukaniu płytki usuwano z niej płynną zawartość studzienek. Po ostatnim płukaniu dokładnie usuwano pozostałość bufora. Na tak przygotowaną mikropłytkę dodawano następnie do każdej ze studzienek 200 μL poliklonalnego przeciwciała specyficznego dla IL-6 (IL-6 Conjugate), a później pozostawiano płytkę w temperaturze pokojowej na kolejne 2 godziny w wytrząsarce. Po tym czasie powtarzano procedurę wypłukiwania studzienek z pozostałości niezwiązanych przeciwciał przy użyciu tego samego bufora (Wash Buffer), co uprzednio. W dalszej kolejności umieszczano w każdej ze studzienek 50 μL roztworu barwnika (Substrate Solution) na 1 godzinę, następnie dodawano 50 μL roztworu wzmacniającego (Amplifier Solution) na 30 minut i na koniec 50 μL roztworu hamującego (Stop Solution). W zależności od ilości IL-6 w poszczególnej studziencie uzyskiwano różne natężenie koloru, które mierzono metodą spektrofotometryczną przy długości fali 650 nm. Schemat oznaczenia stężenia IL-6 przedstawiono na rycinie 3.



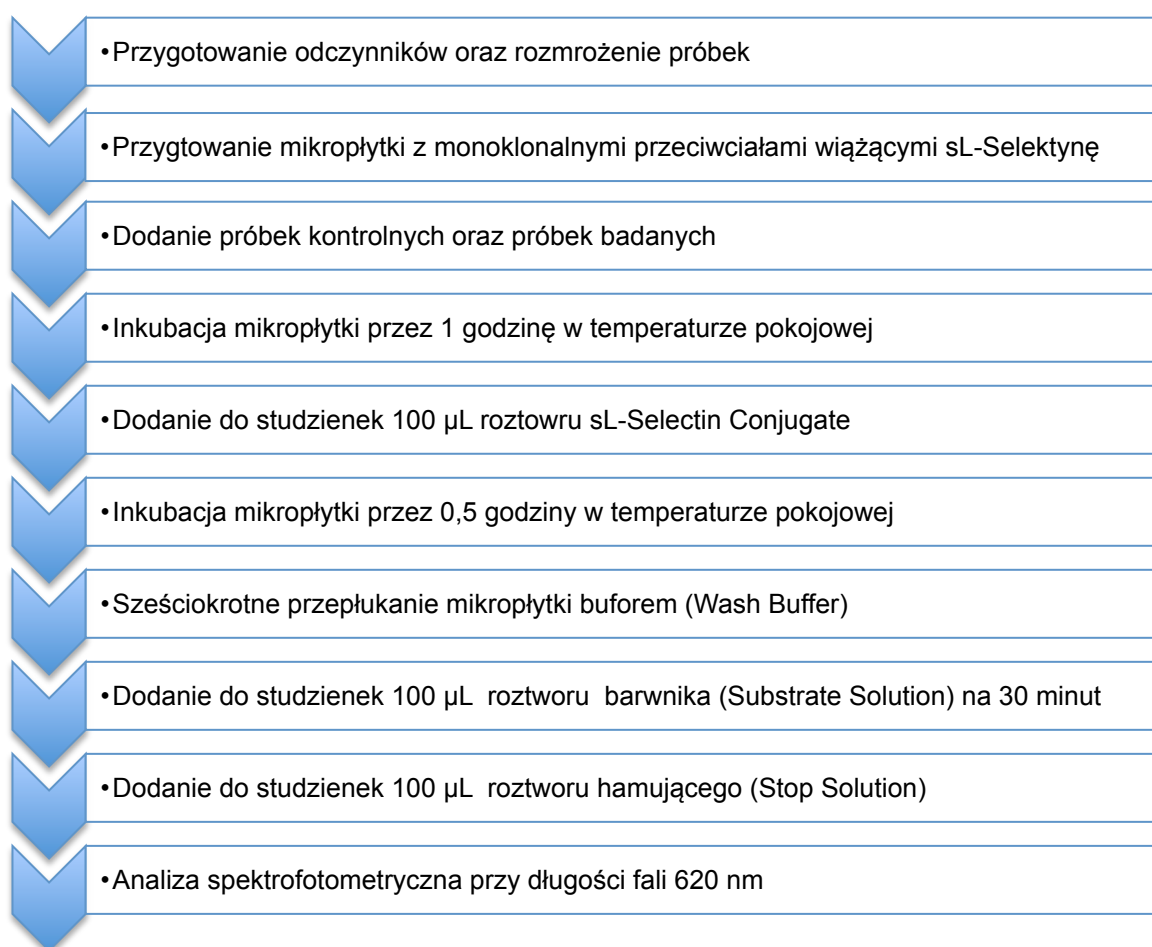
Ryc. 3. Schemat oznaczenia stężenia IL-6 w surowicy krwi żyłnej.

d) sL-Selektyna

Test służący do oznaczenia stężenia sL-Selektyny w surowicy krwi opierał się na ilościowej metodzie kanapkowej.

W pierwszej kolejności przygotowano, zgodnie z instrukcją producenta, wszystkie niezbędne odczynniki oraz badane próbki. Następnie do wszystkich dołków na mikro płytce zawierającej przeciwciała monoklonalne wiążące się z sL-Selektyną, umieszczano za pomocą pipety próbki kontrolne oraz próbki badane (odwirowaną surowicę krwi żyłnej). Tak przygotowany materiał inkubowano w temperaturze pokojowej przez 1 godzinę. W dalszej kolejności do studzienek na mikro płytce dodawano 100 μL poliklonalnego przeciwciała specyficznego dla sL-Selektyny (sL-Selectin Conjugate), a następnie pozostawiano płytkę w temperaturze pokojowej kolejne 0,5 godziny. Po tym czasie przepłukiwano sześciokrotnie mikro płytkę

buforem (Wash Buffer) w celu usunięcia wszystkich umieszczonych na niej substancji niezwiązanych z przeciwciałami. Po każdorazowym przepłukaniu płytki usuwano z niej płynną zawartość studzienek. Po ostatnim płukaniu dokładnie usuwano pozostałość bufora. W dalszej kolejności umieszczano w każdej ze studzienek 100 μ L roztworu barwnika (Substrate Solution) na 30 minut, a następnie dodawano 100 μ L roztworu hamującego (Stop Solution). W zależności od ilości sL-Selektyny w poszczególnej studzience uzyskiwano różne natężenie koloru, które mierzono metodą spektrofotometryczną przy długości fali 620 nm. Schemat oznaczenia stężenia sL-Selektyny przedstawiono na rycinie 4.



Ryc. 4. Schemat oznaczenia stężenia sL-Selektyny w surowicy krwi żyłnej.

3.7. ANALIZA STATYSTYCZNA

Do analizy statystycznej uzyskanych wyników użyto pakietu SigmaStat3.5 (Systat Software, Inc., USA). Analizę rozkładu badanych zmiennych oparto na teście Shapiro-Wilka.

Zmienne o rozkładzie normalnym przedstawiono jako wartości średnie \pm odchylenie standardowe (SD). Zmienne nie spełniające kryteriów rozkładu normalnego przedstawione zostały jako mediany oraz wartości minimalne i maksymalne.

Do porównania istotności statystycznej różnic pomiędzy badanymi grupami, dla zmiennych niepowiązanych, zastosowano t-test dla zmiennych o rozkładzie parametrycznym. Dla zmiennych nie spełniających kryteriów rozkładu normalnego, do oceny istotności różnic w grupach niezależnych zastosowano Mann-Whitney Rank Sum Test. Ocenie istotności statystycznej poddano, także zaobserwowane różnice w poziomach badanych zmiennych przed i po porodzie. Dla zmiennych powiązanych o rozkładzie normalnym, do oceny istotności statystycznej różnic zastosowano t-test dla par połączonych (paired t-test). Dla zmiennych powiązanych o rozkładzie nieparametrycznym, do oceny istotności statystycznej różnic zastosowano test kolejności par Wilcoxon'a.

Cechy niemierzalne (poród silami natury, poród przez cięcie cesarskie, poród ≤ 48 godzin od pęknięcia błon płodowych, poród >48 godzin od pęknięcia błon płodowych, zakażenie noworodka, brak zakażenia noworodka, zakażenie matki, brak zakażenia matki) opisane w skalach dychotomicznych, zostały przedstawione w tabelach liczości 2x2. Do porównania rozkładu cech niemierzalnych zastosowano test chi-kwadrat (χ^2) lub dokładny test Fischer'a (dla mało licznych grup). Różnice w obserwowanych rozkładach wariantów cech, w badanych grupach zostały porównane z teoretycznym rozkładem przypadkowym.

Poziomy korelacji badanych zmiennych oceniono na podstawie testu korelacji Spearmana. Dla zastosowanych metod oceny statystycznej przyjęto poziom istotności statystycznej $p < 0,05$.

Do oceny wartości predykcyjnej ocenianych parametrów do diagnozowania (poród silami natury, poród przez cięcie cesarskie, poród ≤ 48 godzin od pęknięcia błon płodowych, poród > 48 godzin od pęknięcia błon płodowych, zakażenie noworodka, brak zakażenia noworodka, zakażenie matki, brak zakażenia matki) zastosowano analizę krzywych ROC (Receiver Characteristic Operating Curve). Analizę krzywych ROC przeprowadzono za pomocą Pakietu Medycznego w programie Statistica v.10.0 (StatSoft, Inc; Tulsa, OK USA). Analizę przedstawiono jako ocenę wielkości pola pod krzywą (AUC; 95% CI) oraz czułość i specyficzność testu dla wyznaczonego punktu odcięcia. Wielkość parametru AUC,

zawierająca się w zakresie 1,0–0,5, gdzie 0,5 oznacza rozkład losowy została naniesiona na skalę, Poszczególnym zakresom wartości AUC przydzielono następującą klasyfikację:

- 0.9-1.0 = bardzo dobry
- 0.8-0.9 = dobry
- 0.7-0.8 = satysfakcjonuj
- 0.6-0.7 = średni
- 0.5-0.6 = niedostateczny

4. WYNIKI

Zebrane dane analizowano w oparciu o podział na grupy A i B (29 ciężarnych, które urodziły w czasie 48 godzin od momentu pęknięcia błon płodowych oraz 27 ciężarnych, które urodziły po tym okresie), na grupy C i D (39 noworodków, u których nie stwierdzono cech zakażenia wrodzonego oraz 17 noworodków z cechami zakażenia wrodzonego) oraz na grupy E i F (45 ciężarnych i/lub położnic bez cech zakażenia oraz 11 ciężarnych i/lub położnic zakażonych).

4.1. PODZIAŁ I – GRUPY A i B (A – PORÓD \leq 48h, B – PORÓD $>$ 48h)

4.1.1. WYNIK POŁOŻNICZY ORAZ WYNIKI BADAŃ LABORATORYJNYCH MATKI

Pomiędzy grupami A i B nie wykazano istotnych statystycznie różnic w przypadku wieku ciężarnych, wieku ciążowego w momencie pęknięcia błon płodowych, wieku ciążowego w chwili porodu, stężenia leukocytów i białka C-reaktywnego oznaczonego w czasie \leq 6godzin od PPRM oraz \leq 12 godzin od porodu.

Natomiast różnica w długości okresu od pęknięcia błon płodowych do porodu była istotna statystycznie. Czas ten w grupie A wynosił 1, a w grupie B 5 dni. Podobnie częstość zakażenia matki pomiędzy grupami A i B wykazywała istotną statystycznie różnicę. W grupie A tylko u 2 kobiet zaobserwowano cechy zakażenia, natomiast w grupie B aż u 9. Porównanie badanych parametrów wyniku położniczego matki pomiędzy grupą A i B zostało przedstawione w tabeli 10.

Tabela 10. Wynik położniczy matki (grupy A i B).

	Grupa A poród ≤ 48h	Grupa B poród >48h	p
Wiek ciążowy w momencie PPRM (tyg.)			
średnia (± SD)	35 ± 1,6	33 ± 2,1	ns
mediana	31	33	Mann-Whitney
minimum/maksimum	31/36	30/36	Rank Sum Test
Wiek ciążowy w momencie porodu (tyg.)			
średnia (± SD)	35 ± 1,6	34 ± 2,0	ns
mediana	31	31	Mann-Whitney
minimum/maksimum	31/37	31/38	Rank Sum Test
Czas od PPRM do porodu (dni)			
średnia (± SD)	1 ± 0,5	10 ± 11,1	p<0,001
mediana	1	5	Mann-Whitney
minimum/maksimum	1/2	2/57	Rank Sum Test
Matka z cechami zakażenia			
liczba w grupie	2/29	9/27	p<0,05
odsetek w grupie (%)	6,90	33,33	Chi-Square Test
Matka bez cech zakażenia			
liczba w grupie	27/29	18/27	p<0,05
odsetek w grupie (%)	93,10	66,67	Chi-Square Test
Stężenie leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤6 godzin od PPRM (G/l)			
średnia (± SD)	10,45 ± 2,69	10,95 ± 3,22	ns
mediana	10,11	11,12	t-Test
minimum/maksimum	6,00/15,00	2,00/15,00	
Stężenie leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤12 godzin od porodu (G/l)			
średnia (± SD)	16,50 ± 6,50	17,60 ± 5,70	ns
mediana	15,12	16,11	t-Test
minimum/maksimum	8,00/35,00	7,00/27,00	
Stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤6 godzin od PPRM (mg/l)			
średnia (± SD)	4,31 ± 4,41	6,84 ± 6,33	ns
mediana	3,01	4,16	Mann-Whitney
minimum/maksimum	0,91/10,00	1,15/10,00	Rank Sum Test
Stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤12 godzin od porodu (mg/l)			
średnia (± SD)	28,52 ± 20,62	64,53 ± 66,21	ns
mediana	27,11	48,23	Mann-Whitney
minimum/maksimum	3,33/95,32	1,51/223,42	Rank Sum Test

W obu grupach stężenie leukocytów oraz CRP w surowicy krwi matki w przeciągu 12 godzin od porodu wzrastało i wykazywało istotną statystycznie różnicę w stosunku do wartości w okresie ≤6 godzin od PPRM. Szczegółowe dane dotyczące stężenia leukocytów oraz CRP dla grup A i B w zależności od czasu pobrania próbki do badania przedstawiono w tabeli 11.

Tabela 11. Stężenie leukocytów oraz CRP w surowicy krwi matki w zależności od czasu pobrania próbki (≤ 6 godzin od PPROM oraz ≤ 12 godzin od porodu) (grupy A i B).

	Stężenie leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPROM (G/l) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	Stężenie leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (G/l) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	<i>p</i>	Stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPROM (mg/l) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	Stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (mg/l) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	<i>p</i>
Grupa A poród $\leq 48h$	10,45 \pm 2,69 10,11 6,00/15,00	16,50 \pm 6,50 15,12 8,00/35,00	<0,001 t-Test	4,31 \pm 4,41 3,01 0,91/10,00	28,52 \pm 20,62 27,11 3,33/95,32	<0,001 paired t-Test
Grupa B poród $>48h$	10,95 \pm 3,22 11,12 2,00/15,00	17,60 \pm 5,70 16,11 7,00/27,00	<0,001 t-Test	6,84 \pm 6,33 4,16 1,15/10,00	64,53 \pm 66,21 48,23 1,51/223,42	<0,001 paired t-Test

W obu badanych grupach nie zauważono istotnych statystycznie różnic w sposobie zakończenia ciąży. W grupie A 5 z 29, natomiast w grupie B 10 z 27 kobiet miało wykonane cięcie cesarskie. Szczegółowe dane dotyczące sposobu zakończenia ciąży w zależności od przynależności do grupy A i B przedstawiono w tabeli 12.

Tabela 12. Sposób zakończenia ciąży (grupy A i B).

	Grupa A poród $\leq 48h$	Grupa B poród $>48h$	<i>p</i>
Poród siłami natury liczba w grupie odsetek w grupie (%)	24/29 82,76	17/27 62,97	ns Chi Square Test
Cięcie cesarskie liczba w grupie odsetek w grupie (%)	5/29 17,24	10/27 37,03	ns Chi Square Test

4.1.2. WYNIK POŁOŻNICZY ORAZ WYNIKI BADAŃ LABORATORYJNYCH NOWORODKA

Noworodki z grup A i B nie różniły się między sobą w zakresie średniej masy urodzeniowej. Uzyskiwały także podobną punktację w skali Apgar w pierwszej oraz piątej minucie życia. Nie stwierdzono różnic w poziomie pH pępowinowej krwi tętniczej i żylniej. Podobnie wartości stężenia leukocytów oraz stężenia CRP w surowicy krwi noworodka nie różniły się znacząco pomiędzy grupami. Natomiast w przypadku długości hospitalizacji w Oddziale Neonatologicznym zauważono istotne statystycznie różnice. Noworodki w grupie A przebywały przeciętnie w Oddziale Neonatologicznym 7, a w grupie B 10 dni. Również liczba wentylowanych noworodków w grupie A była znacząco niższa, aniżeli w grupie B.

Tylko 1 noworodek spośród urodzonych w czasie do 48 godzin od pęknięcia błon płodowych był wentylowany, w porównaniu do 7 urodzonych po tym okresie. Porównanie badanych parametrów wyniku położniczego noworodka pomiędzy grupą A i B zostało przedstawione w tabeli 13.

Tabela 13. Wynik położniczy noworodka (grupy A i B).

	Grupa A poród ≤48h	Grupa B poród >48h	p
Masa urodzeniowa noworodka (g) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	2552 ± 447,18 2610 1425/3390	2423 ± 562,67 2480 1380/3370	ns t-Test
pH pępowinowej krwi tętniczej średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	7,28 ± 0,10 7,29 7,09/7,42	7,29 ± 0,08 7,31 7,13/7,41	ns t-Test
pH pępowinowej krwi żyłnej średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	7,30 ± 0,08 7,31 7,08/7,42	7,32 ± 0,10 7,33 7,13/7,51	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Długość hospitalizacji w Oddziale Neonatologicznym (dni) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	8 ± 4,8 7 3/30	14 ± 11,4 10 3/50	p<0,05 Mann-Whitney Rank Sum Test
Liczba wentylowanych noworodków liczba w grupie odsetek w grupie (%)	1 3,45	7 25,93	p<0,05 Fischer Exact Test
Punktacja w skali Apgar w 1' średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	8 ± 2,0 9 2/10	8 ± 2,8 8 1/10	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Punktacja w skali Apgar w 5' średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	9 ± 1,7 10 3/10	9 ± 1,4 10 6/10	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie leukocytów w surowicy krwi noworodka (G/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	16,51 ± 5,2 16,21 8,22/230,61	18,41 ± 10,5 17,62 0,5/157,01	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie CRP w surowicy krwi noworodka (mg/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	5,42 ± 8,0 2,11 0,11/37,51	12,17 ± 27,5 1,55 0,09/120,51	ns Mann-Whitney Rank Sum Test

W obu grupach wrodzone zakażenie noworodka występowało z podobną częstością. W grupie A zakażenie noworodka rozpoznano u 9 (31,03%), a w grupie B u 8 (29,63%) noworodków. Szczegółowe dane dotyczące wrodzonego zakażenia noworodka w zależności od przynależności do grupy A i B przedstawiono w tabeli 14.

Tabela 14. Wrodzone zakażenie noworodka (grupy A i B).

	Grupa A poród ≤48h	Grupa B poród >48h	p
Noworodki z cechami zakażenia			ns
liczba w grupie	9/29	8/27	Mann-Whitney
odsetek w grupie (%)	(31,03)	(29,63)	Rank Sum Test
Noworodki bez cech zakażenia			ns
liczba w grupie	20/29	19/27	Mann-Whitney
odsetek w grupie (%)	68,97	70,37	Rank Sum Test

4.1.3. BADANE CYTOKINY PROZAPALNE

Szczegółowe wyniki dotyczące badanych cytokin w zależności od przynależności do grupy A lub B oraz w zależności od czasu pobrania próbki do badania przedstawiono w tabeli 15 i 16.

Tabela 15. Badane cytokiny w zależności od przynależności do grupy A lub B.

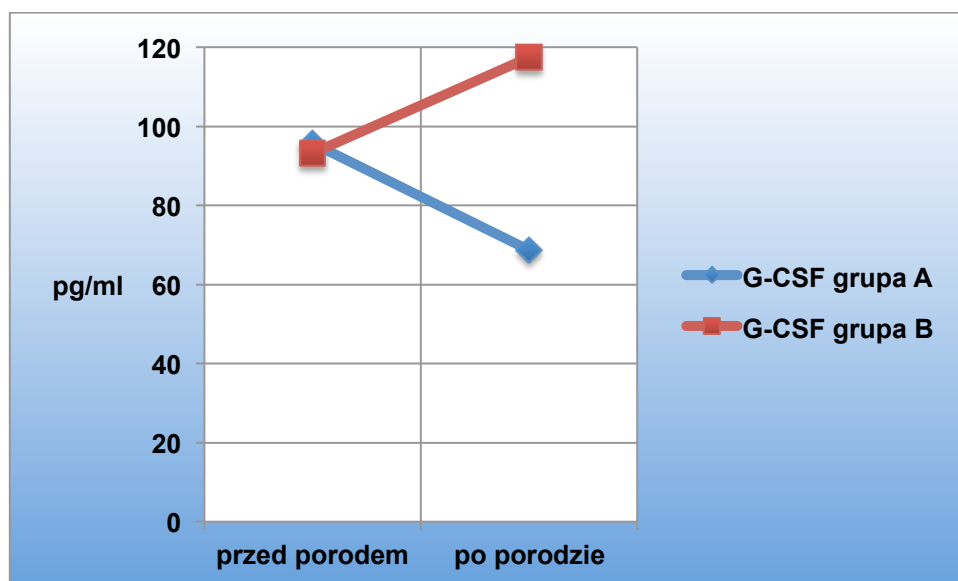
	Grupa A poród ≤48h	Grupa B poród >48h	p
Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤6 godzin od PPRM (pg/ml)			ns
średnia (± SD)	137,58 ± 118,01	122,67 ± 79,63	Mann-Whitney
mediana	95,86	93,25	Rank Sum Test
minimum/maksimum	19,52/546,94	29,35/311,29	
Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤12 godzin od porodu (pg/ml)			p<0,05
średnia (± SD)	77,49 ± 49,63	131,41 ± 89,56	Mann-Whitney
mediana	68,72	117,54	Rank Sum Test
minimum/maksimum	11,83/223,28	11,32/318,29	
Stężenie TNF-α w surowicy krwi matki w czasie ≤6 godzin od PPRM (pg/ml)			ns
średnia (± SD)	1,38 ± 0,42	1,45 ± 0,49	Mann-Whitney
mediana	1,28	1,25	Rank Sum Test
minimum/maksimum	0,83/2,33	0,79/2,46	
Stężenie TNF-α w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (pg/ml)			p<0,05
średnia (± SD)	1,54 ± 0,84	2,28 ± 1,08	Mann-Whitney
mediana	1,31	1,79	Rank Sum Test
minimum/maksimum	0,65/4,83	1,19/4,83	
Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤6 godzin od PPRM (pg/ml)			p<0,05
średnia (± SD)	6,87 ± 3,54	3,65 ± 2,58	Mann-Whitney
mediana	6,34	2,95	Rank Sum Test
minimum/maksimum	1,83/13,20	0,58/10,32	
Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤12 godzin od porodu (pg/ml)			ns
średnia (± SD)	7,02 ± 3,92	8,57 ± 3,05	t-Test
mediana	8,82	9,38	
minimum/maksimum	1,29/13,16	3,30/13,45	
Stężenie sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka (ng/ml)			ns
średnia (± SD)	854,10 ± 158,48	891,17 ± 194,48	t-Test
mediana	804,85	881,95	
minimum/maksimum	529,05/1325,05	590,90/1248,40	

Tabela 16. Badane cytokiny w zależności od czasu pobrania próbki (w czasie ≤ 6 godzin od PPRM oraz ≤ 12 godzin od porodu) (grupy A i B).

	Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (pg/ml) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (pg/ml) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	<i>p</i>
Grupa A poród $\leq 48h$	137,58 \pm 118,01 95,86 19,52/546,94	77,49 \pm 49,63 68,72 11,83/223,28	<0,05 paired t-Test
Grupa B poród >48h	122,67 \pm 79,63 93,25 29,35/311,29	131,41 \pm 89,56 117,54 11,32/318,29	ns paired t-Test
	Stężenie TNF- α w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (pg/ml) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	Stężenie TNF- α w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (pg/ml) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	<i>p</i>
Grupa A poród $\leq 48h$	1,38 \pm 0,42 1,28 0,83/2,33	1,54 \pm 0,84 1,31 0,65/4,83	ns paired t-Test
Grupa B poród >48h	1,45 \pm 0,49 1,25 0,79/2,46	2,28 \pm 1,08 1,79 1,19/4,83	<0,05 paired t-Test
	Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (pg/ml) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (pg/ml) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	<i>p</i>
Grupa A poród $\leq 48h$	6,87 \pm 3,54 6,34 1,83/13,20	7,02 \pm 3,92 8,82 1,29/13,16	ns paired t-Test
Grupa B poród >48h	3,65 \pm 2,58 2,95 0,58/10,32	8,57 \pm 3,05 9,38 3,30/13,45	<0,001 paired t-Test

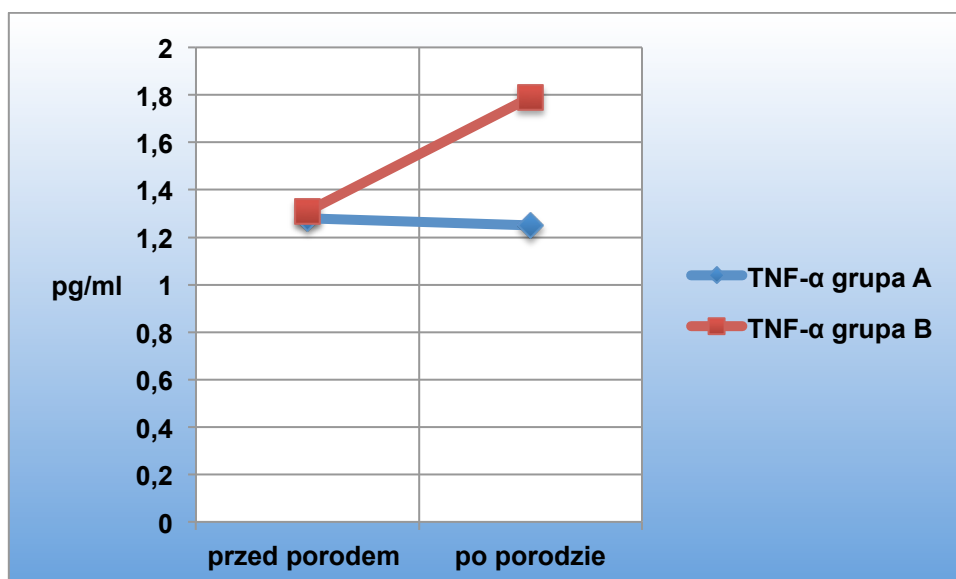
Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w stężeniu G-CSF w przeciągu 6 godzin od PPRM pomiędzy obiema grupami. Mediana stężenia G-CSF w czasie ≤ 12 godzin od porodu wynosiła dla grupy A i B odpowiednio 68,72 pg/ml oraz 117,54 pg/ml i różnica ta była istotna statystycznie. Ponadto zauważono, że w grupie A stężenie G-CSF po porodzie znacząco spadało, natomiast w grupie B pozostawało na podobnym poziomie wartości.

Stężenia G-CSF zmierzone w przeciągu 6 godzin od PPRM oraz w okresie 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki w grupach A i B przedstawiono na rycinie 5.



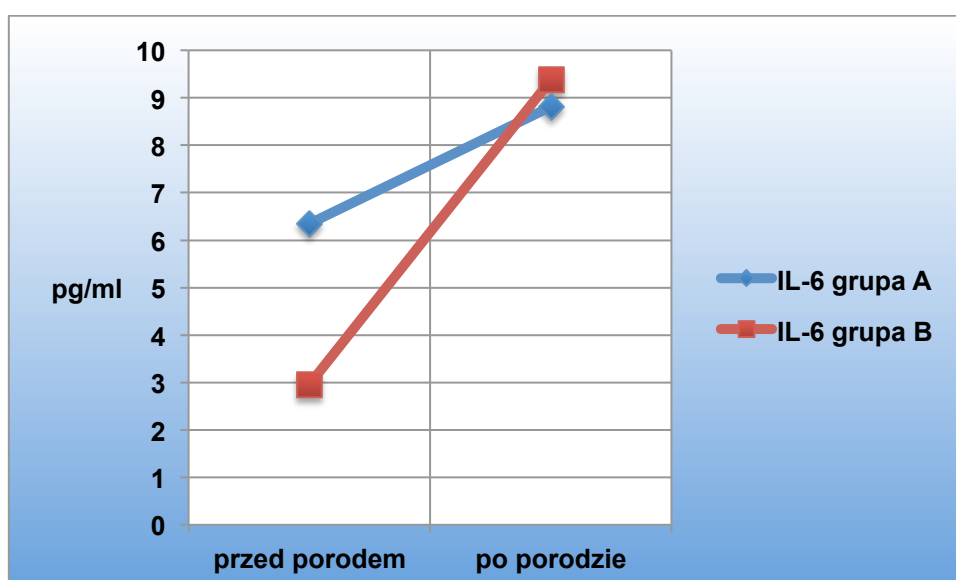
Ryc. 5. Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu (grupy A i B).

Statystycznie istotną różnicę zaobserwowano także w przypadku różnicy stężenia TNF- α w drugim oznaczeniu w surowicy krwi obwodowej pacjentek z obu grup. W grupie A stężenie to wyniosło przeciętnie 1,31 pg/ml, a w grupie B 1,79 pg/ml. W przypadku stężenia TNF- α uzyskanego w okresie ≤ 6 godzin od PPRM nie wykazano takiej zależności. Stężenie TNF- α w czasie ≤ 12 godzin od porodu w grupie A pozostawało na podobnym poziomie wartości, natomiast w grupie B wykazywało wyraźną tendencję wzrostową. Stężenia TNF- α zmierzone w przeciągu 6 godzin od PROM oraz w okresie 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki w grupach A i B przedstawiono na rycinie 6.



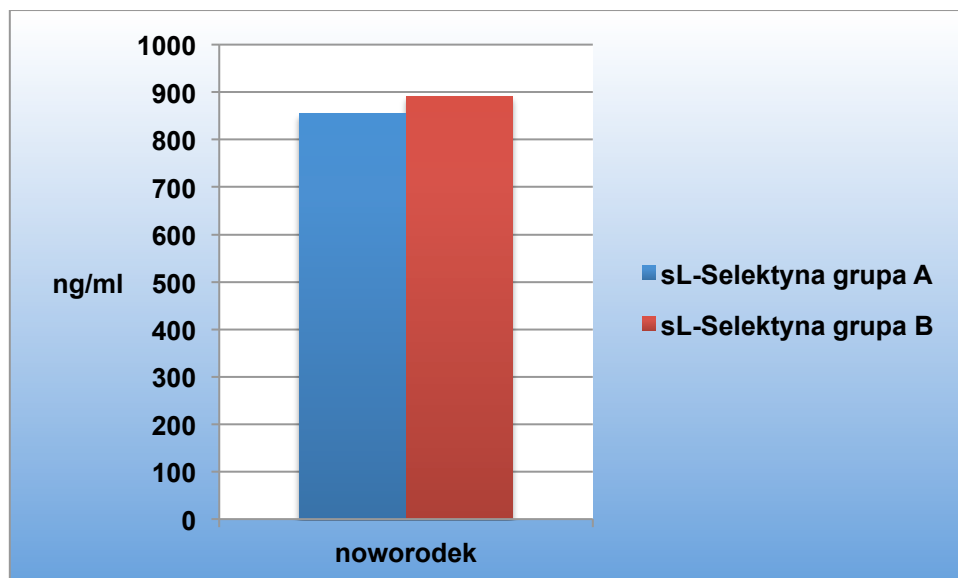
Ryc. 6. Stężenia TNF- α w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM oraz ≤ 12 godzin od porodu (grupy A i B).

Grupa A charakteryzowała się istotnym statystycznie wyższym stężeniem IL-6 w pierwszym oznaczeniu (6,34 pg/ml) w porównaniu do grupy B (2,95 pg/ml). Natomiast stężenie IL-6 w drugim oznaczeniu w obu grupach były porównywalne. Ponadto w przypadku grupy B obserwowano po porodzie wyraźny wzrost stężenia IL-6, a w grupie A pozostawało na podobnym poziomie wartości. Stężenia IL-6 w pierwszym oraz drugim oznaczeniu w surowicy krwi matki w grupach A i B przedstawiono na rycinie 7.



Ryc. 7. Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM oraz ≤ 12 godzin od porodu (grupy A i B).

Noworodki kobiet z obu grup nie różniły się między sobą w sposób istotny statystycznie w przypadku stężenia sL-Selektyny w surowicy krwi obwodowej. Stężenie sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka w zależności od przynależności do grupy A lub B przedstawiono na rycinie 8.



Ryc. 8. Stężenie sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka (grupy A i B).

4.1.4. ANALIZA KRZYWYCH ROC W OPARCIU O PODZIAŁ NA GRUPY A I B

Na podstawie uzyskanych wyników stężenia badanych cytokin (G-CSF, TNF- α , IL-6) oraz leukocytów i CRP w okresie ≤ 6 godzin od PPRM (w momencie kwalifikacji do badania) analizowano wartość predykcyjną ww. parametrów w przewidywaniu długości okresu od PPRM do porodu. Pole pod krzywą ROC dla testu oceniającego predykcję porodu w czasie >48 godzin od PROM w przypadku przedporodowego stężenia G-CSF, TNF- α , IL-6, leukocytów czy CRP w surowicy krwi matki nie przekroczyło wartości 0,8 dla żadnego z ww. parametrów. Szczegółowe wyniki oceny wartości predykcyjnej porodu >48 h od pęknięcia błon płodowych na podstawie stężenia G-CSF, TNF- α , IL-6, leukocytów czy CRP w surowicy krwi matki w chwili pęknięcia błon płodowych przedstawiono w tabeli 17.

Tabela 17. Ocena wartości predykcyjnej porodu >48h od pęknięcia błon płodowych na podstawie stężenia G-CSF, TNF- α , IL-6, leukocytów i CRP w okresie ≤ 6 godzin od PPRM.

PORÓD > 48h	AUC	SE	Przedział ufności 95% CI	Proponowany punkt odcięcia (pg/ml)	Czułość (%)	Specyficzność (%)
Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (pg/ml)	0,476	0,078	0,323-0,630	124,433	37,0	72,4
Stężenie TNF- α w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (pg/ml)	0,611	0,076	0,462-0,760	1,476	51,9	72,4
Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (pg/ml)	0,266	0,068	0,133-0,399	13,156	0	90,0
Stężenie leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (G/l)	0,349	0,077	0,198-0,500	15,0	5,9	89,7
Stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (mg/l)	0,478	0,083	0,315-0,642	10,00	5,9	94,9

4.2. PODZIAŁ II – GRUPY C i D (C – NOWORODKI BEZ CECH ZAKAŻENIA, D – NOWORODKI Z CECHAMI ZAKAŻENIA)

4.2.1. WYNIK POŁOŻNICZY ORAZ WYNIKI BADAŃ LABORATORYJNYCH MATKI

Pomiędzy grupami C i D nie wykazano istotnych statystycznie różnic w przypadku wieku ciężarnych, stężenia leukocytów w czasie ≤ 6 godzin od PPRM oraz ≤ 12 godzin od porodu czy stężenia białka C-reaktywnego w okresie ≤ 6 godzin od PPRM. Stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu różniło się znacząco między grupami C i D i wynosiło odpowiednio 23,81 mg/l oraz 68,92 mg/l. Wiek ciążowy w momencie pęknięcia błon płodowych oraz w chwili porodu także był zdecydowanie odmienny w obu grupach i wynosił odpowiednio 34 i 33 oraz 35 i 34 tygodnie. Różnica w długości okresu od pęknięcia błon płodowych do porodu nie była istotna statystycznie. Jednak liczba matek, u których stwierdzono cechy zakażenia (n=9) była znacząco większa w grupie noworodków z rozpoznaniem wrodzonym zakażeniem w porównaniu do liczby matek (n=2) noworodków bez cech zakażenia wrodzonego. Porównanie badanych parametrów wyniku położniczego matki pomiędzy grupami C i D zostało przedstawione w tabeli 18.

Tabela 18. Wynik położniczy matki (grupy C i D).

	Grupa C noworodki bez cech wrodzonego zakażenia	Grupa D noworodki z cechami wrodzonego zakażenia	p
Wiek ciąży w momencie PPRM (tyg.) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	34 ± 1,6 34 30/36	33 ± 2,1 33 30/36	p<0,05 Mann-Whitney Rank Sum Test
Wiek ciąży w momencie porodu (tyg.) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	35 ± 1,5 35 31/38	34 ± 2,0 34 31/36	p<0,05 Mann-Whitney Rank Sum Test
Czas od PPRM do porodu (dni) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	6 ± 9,9 2 1/57	5 ± 5,7 2 1/20	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Matka z cechami zakażenia liczba w grupie odsetek w grupie (%)	2/39 5,12	9/17 52,94	p<0,05 Fischer Exact Test
Matka bez cech zakażenia liczba w grupie odsetek w grupie (%)	37/39 94,88	8/17 47,06	p<0,05 Fischer Exact Test
Stężenie leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤6 godzin od PPRM (G/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	11,19 ± 2,85 12,00 6,00/15,00	9,55 ± 2,92 10,00 4,00/10,00	ns t-Test
Stężenie leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤12 godzin od porodu (G/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	16,56 ± 5,57 15,31 6,60/28,87	17,92 ± 7,25 15,93 9,20/34,76	ns t-Test
Stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤6 godzin od PPRM (mg/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	5,66 ± 5,66 4,01 0,87/10,00	5,25 ± 5,33 3,39 1,43/10,00	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤12 godzin od porodu (mg/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	29,41 ± 26,02 23,81 1,60/118,12	83,52 ± 72,32 68,92 12,50/223,42	p<0,05 Mann-Whitney Rank Sum Test

W obu grupach stężenie leukocytów oraz CRP w surowicy krwi matki w przeciągu 12 godzin od porodu wzrastało i wykazywało istotną statystycznie różnicę w stosunku do wartości w okresie ≤6 godzin od PPRM. Szczegółowe dane dotyczące stężenia leukocytów oraz CRP dla grup C i D w zależności od czasu pobrania próbki do badania przedstawiono w tabeli 19.

Tabela 19. Stężenie leukocytów oraz CRP w surowicy krwi matki w zależności od czasu pobrania próbki (≤ 6 godzin od PPRM oraz ≤ 12 godzin od porodu) (grupy C i D).

	Stężenie leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (G/l) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	Stężenie leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (G/l) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	<i>p</i>	Stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (mg/l) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	Stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (mg/l) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	<i>p</i>
Grupa C noworodki bez cech wrodzonego zakażenia	11,19 \pm 2,85 12,00 6,00/15,00	16,56 \pm 5,57 15,31 6,60/28,87	<0,001 t-Test	5,66 \pm 5,66 4,01 0,87/10,00	29,41 \pm 26,02 23,81 1,61/118,12	<0,001 Wilcoxon Signed Rank Test
Grupa D noworodki z cechami wrodzonego zakażenia	9,55 \pm 2,92 10,00 4,00/10,00	17,92 \pm 7,25 15,93 9,20/34,76	<0,001 t-Test	5,25 \pm 5,33 3,39 1,43/10,00	83,52 \pm 72,3 68,92 12,51/223,42	<0,001 paired t-Test

W grupach C i D nie zauważono istotnych statystycznie różnic w sposobie zakończenia ciąży. W grupie C 11 z 39, natomiast w grupie D 6 z 17 kobiet miało wykonane cięcie cesarskie. Podobna była również liczba pacjentek, które urodziły w czasie krótszym niż 48 godzin oraz liczba kobiet, u których poród odbył się po 48 godzinach od pęknięcia błon płodowych. Szczegółowe dane dotyczące sposobu zakończenia ciąży oraz liczby pacjentek, u których poród odbył się w okresie do 48 godzin i po tym czasie, w zależności od przynależności do grupy C i D przedstawiono w tabeli 20.

Tabela 20. Sposób zakończenia ciąży oraz poród ≤ 48 godzin i >48 godzin od PPRM (grupy C i D).

	Grupa C noworodki bez cech wrodzonego zakażenia	Grupa D noworodki z cechami wrodzonego zakażenia	<i>p</i>
Poród siłami natury liczba w grupie odsetek w grupie (%)	30/39 76,92	9/17 52,94	ns Fischer Exact Test
Cięcie cesarskie liczba w grupie odsetek w grupie (%)	9/39 23,08	8/17 47,06	ns Fischer Exact Test
Poród ≤ 48h liczba w grupie odsetek w grupie (%)	20/39 51,28	9/17 52,94	ns Chi-Square Test
Poród >48h liczba w grupie odsetek w grupie (%)	19/39 48,72	8/17 47,06	ns Chi-Square Test

4.2.2. WYNIK POŁOŻNICZY ORAZ WYNIKI BADAŃ LABORATORYJNYCH NOWORODKA

Noworodki z grup C i D różniły się między sobą znacząco w zakresie średniej masy urodzeniowej, która wynosiła odpowiednio 2650 g oraz 2250 g. Podobnie stan noworodków określany w skali Apgar był wyraźnie odmienny dla noworodków z obu grup. W grupie C punktacja w skali Apgar w pierwszej oraz piątej minucie życia miała odpowiednio wartość 10 oraz 10, natomiast w grupie D 7 oraz 8. W przypadku wartości pH pępowinowej krwi tętniczej i żylniej nie obserwowano takiej zależności. Stężenie leukocytów we krwi noworodka było podobne zarówno u noworodków z cechami zakażenia, jak i u tych niezakażonych, natomiast stężenie białka C-reaktywnego pomiędzy grupami różniło się znacząco i wynosiło odpowiednio 1,26 mg/l oraz 11,49 mg/l. W przypadku długości hospitalizacji w Oddziale Neonatologicznym także zanotowano istotne statystycznie różnice. Noworodki w grupie C przebywały średnio w Oddziale Neonatologicznym 7, a w grupie D 11 dni. Porównanie badanych parametrów wyniku położniczego noworodka pomiędzy grupą C i D zostało przedstawione w tabeli 21.

Tabela 21. Wynik położniczy noworodka (grupy C i D).

	Grupa C noworodki bez cech wrodzonego zakażenia	Grupa D noworodki z cechami wrodzonego zakażenia	p
Masa urodzeniowa noworodka (g) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	2600 ± 432,28 2650 1750/3390	2236 ± 580,63 2250 1380/3360	p<0,05 Mann-Whitney Rank Sum Test
pH pępowinowej krwi tętniczej średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	7,29 ± 0,08 7,30 7,08/7,41	7,29 ± 0,09 7,32 7,09/7,42	ns t-Test
pH pępowinowej krwi żyłnej średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	7,30 ± 0,09 7,32 7,13/7,44	7,32 ± 0,10 7,33 7,15/7,51	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Długość hospitalizacji w Oddziale Neonatologicznym (dni) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	8 ± 5,3 7 3/30	17 ± 12,5 11 7/50	p<0,05 Mann-Whitney Rank Sum Test
Liczba wentylowanych noworodków liczba w grupie odsetek w grupie (%)	4 10,26	4 23,53	ns Fischer Exact Test
Punktacja w skali Apgar w 1' średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	9 ± 2,15 10 1/10	7 ± 2,56 7 3/10	p<0,05 Mann-Whitney Rank Sum Test
Punktacja w skali Apgar w 5' średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	9 ± 1,44 10 3/10	8 ± 1,51 8 6/10	p<0,05 Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie leukocytów w surowicy krwi noworodka (G/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	16,35 ± 6,25 16,30 0,51/35,80	19,85 ± 11,30 18,30 8,00/57,00	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie CRP w surowicy krwi noworodka (mg/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	2,47 ± 2,79 1,26 0,01/11,60	22,92 ± 32,43 11,49 0,25/120,46	p<0,05 Mann-Whitney Rank Sum Test

4.2.3. BADANE CYTOKINY PROZAPALNE

Szczegółowe wyniki dotyczące badanych cytokin w zależności od przynależności do grupy C lub D oraz w zależności od czasu pobrania próbki do badania przedstawiono w tabeli 22 i 23.

Tabela 22. Badane cytokiny w zależności od przynależności do grupy C lub D.

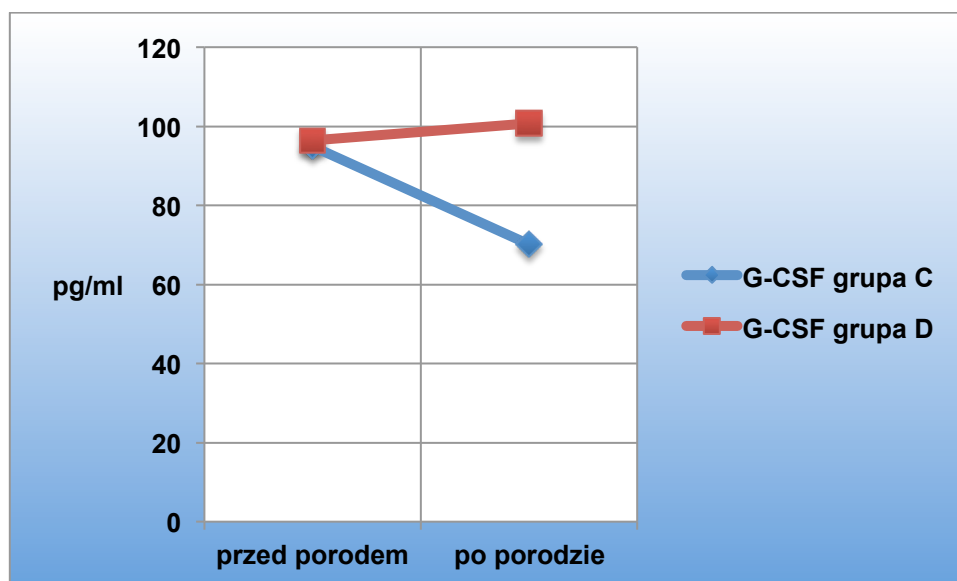
	Grupa C noworodki bez cech wrodzonego zakażenia	Grupa D noworodki z cechami wrodzonego zakażenia	<i>p</i>
Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤6 godzin od PPRM (pg/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	123,72 ± 99,82 94,92 19,53/546,95	145,43 ± 104,12 96,45 35,96/426,64	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤12 godzin od porodu (pg/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	99,59 ± 71,98 70,09 11,33/288,06	112,20 ± 86,28 100,77 17,89/318,16	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie TNF-α w surowicy krwi matki w czasie ≤6 godzin od PPRM (pg/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	1,51 ± 0,63 1,38 0,83/4,49	1,43 ± 0,49 1,25 0,79/2,46	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie TNF-α w surowicy krwi matki w czasie ≤12 godzin od porodu (pg/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	1,60 ± 0,89 1,45 0,65/5,55	2,03 ± 0,98 1,70 1,11/4,83	p<0,05 Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤6 godzin od PPRM (pg/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	5,27 ± 3,42 4,09 0,58/11,72	5,68 ± 4,43 2,96 0,84/13,16	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤12 godzin od porodu (pg/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	7,51 ± 3,43 7,88 1,83/13,20	8,10 ± 3,37 8,09 0,84/13,16	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka (ng/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	872,22 ± 164,58 865,35 590,90/1248,40	871,41 ± 205,64 797,01 529,05/1325,05	ns t-Test

Tabela 23. Badane cytokiny w zależności od czasu pobrania próbki (≤ 6 godzin od PROM lub ≤ 12 godzin od porodu) (grupy C i D).

	Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (pg/ml) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (pg/ml) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	p
Grupa C noworodki bez cech wrodzonego zakażenia	123,72 \pm 99,82 94,92 19,53/546,95	99,59 \pm 71,98 70,09 11,33/288,06	ns paired t-Test
Grupa D noworodki z cechami wrodzonego zakażenia	145,43 \pm 104,12 96,45 35,96/426,64	112,20 \pm 86,28 100,77 17,89/318,16	ns paired t-Test
	Stężenie TNF-α w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (pg/ml) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	Stężenie TNF-α w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (pg/ml) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	p
Grupa C noworodki bez cech wrodzonego zakażenia	1,51 \pm 0,63 1,38 0,83/4,49	1,60 \pm 0,89 1,45 0,65/5,55	ns paired t-Test
Grupa D noworodki z cechami wrodzonego zakażenia	1,43 \pm 0,49 1,25 0,79/2,46	2,03 \pm 0,98 1,70 1,11/4,83	<0,001 paired t-Test
	stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (pg/ml) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (pg/ml) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	p
Grupa C noworodki bez cech wrodzonego zakażenia	5,27 \pm 3,42 4,09 0,58/11,72	7,51 \pm 3,43 7,88 1,83/13,20	<0,05 paired t-Test
Grupa D noworodki z cechami wrodzonego zakażenia	5,68 \pm 4,43 2,96 0,84/13,16	8,10 \pm 3,37 8,09 0,84/13,16	<0,05 paired t-Test

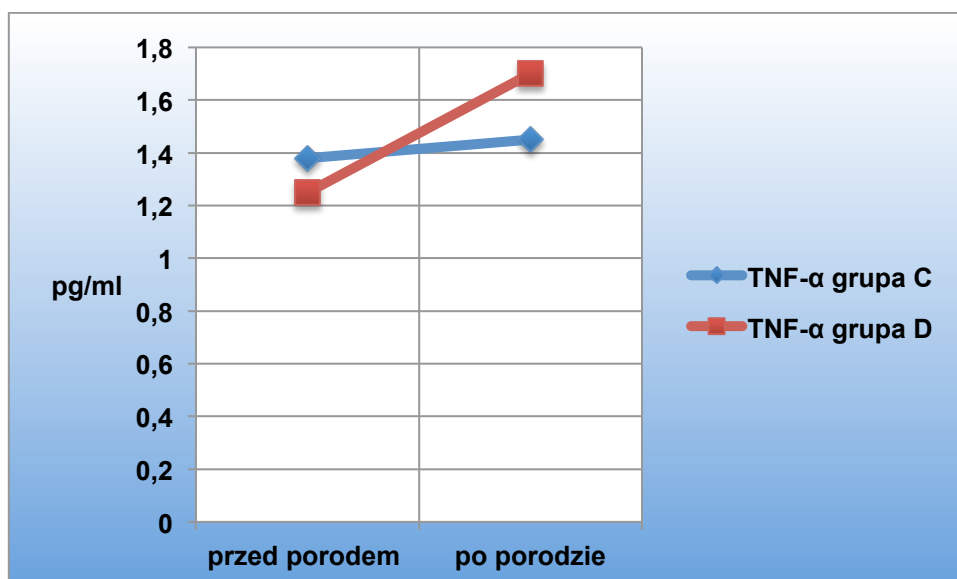
Pomiędzy grupami C i D nie obserwowano istotnych statystycznie różnic w zakresie stężeń badanych cytokin, poza stężeniem czynnika martwicy nowotworów-alfa w czasie ≤ 12 godzin od porodu. Stężenie G-CSF w obu grupach pozostawało na podobnym poziomie wartości, jednak w grupie noworodków bez cech wrodzonego zakażenia stężenie tej cytokiny wydaje się posiadać tendencję spadkową, czego niestety nie potwierdziły obliczenia

statystyczne. Stężenie G-CSF zmierzone w przeciągu 6 godzin od PPRM oraz 12 godzin od porodu, w surowicy krwi matki w grupach C i D przedstawiono na rycinie 9.



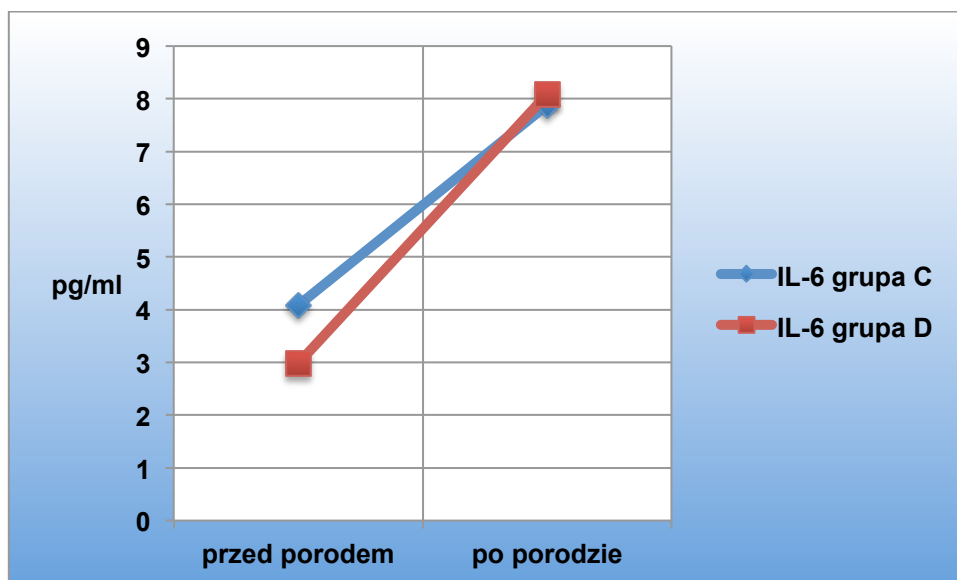
Ryc. 9. Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM oraz ≤ 12 godzin od porodu (grupy C i D).

W obu grupach stężenie czynnika martwicy nowotworów-alfa w okresie ≤ 6 godzin od PPRM w surowicy krwi obwodowej matki nie różniło się znacząco między sobą. Natomiast zmierzone w przeciągu 12 godzin od porodu stężenie tej samej cytokiny miało odpowiednio wartość 1,45 pg/ml oraz 1,70 pg/ml i odznaczało się istotną statystycznie różnicą. Tendencja wzrostowa stężenia TNF- α w surowicy krwi obwodowej matek noworodków z cechami zakażenia wrodzonego była wyraźnie zaznaczona, podczas gdy w grupie noworodków zdrowych jego stężenie pozostawało na podobnym poziomie wartości. Stężenia TNF- α zmierzone w czasie 6 godzin od PROM oraz 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki w grupach C i D przedstawiono na rycinie 10.



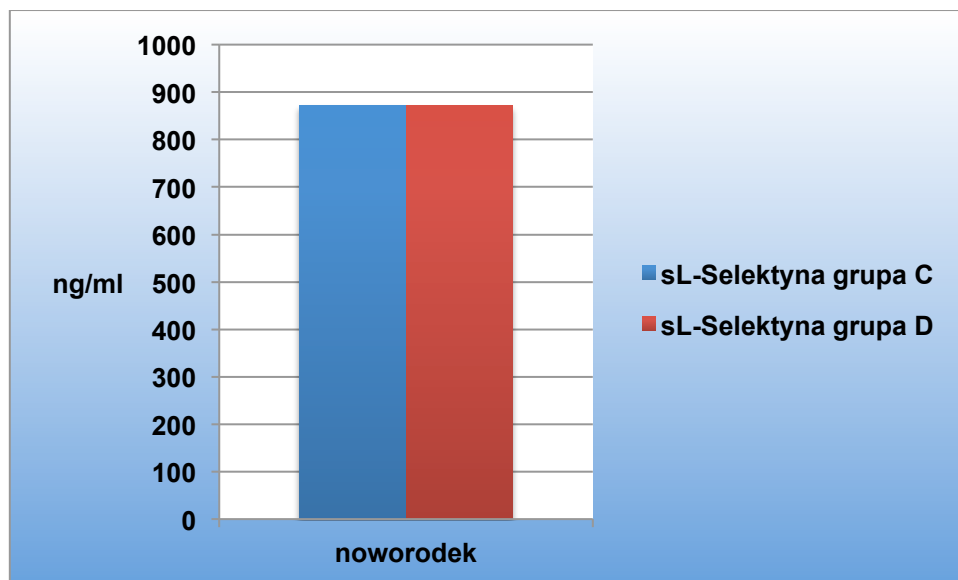
Ryc. 10. Stężenia 4 w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu (grupy C i D).

Zarówno stężenie w czasie ≤ 6 godzin od PPRM, jak i ≤ 12 godzin od porodu interleukiny-6 nie różniło się pomiędzy grupami C i D. W obu grupach stężenie IL-6 po porodzie ulegało wyraźnemu wzrostowi. Stężenia IL-6 zmierzone w czasie 6 godzin od PPRM oraz 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki w zależności od przynależności do grupy C lub D przedstawiono na rycinie 11.



Ryc. 11. Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu (grupy C i D).

Noworodki kobiet z grup C i D nie różniły się między sobą w sposób istotny statystycznie w przypadku stężenia sL-Selektyny w surowicy krwi obwodowej. Stężenie sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka w zależności od przynależności do grupy C lub D przedstawiono na rycinie 12.



Ryc. 12. Stężenie sL-Selektyny w zależności od przynależności do grupy C lub D.

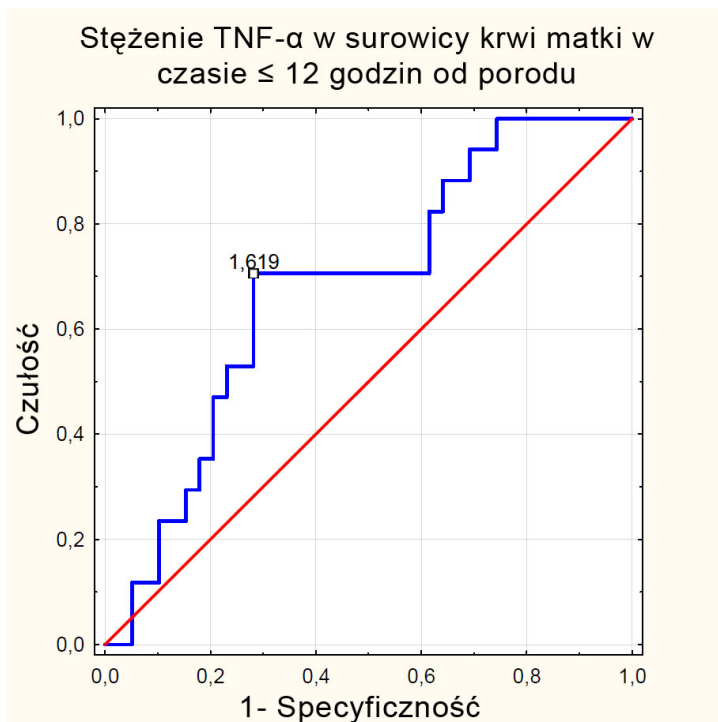
4.2.4. ANALIZA KRZYWYCH ROC W OPARCIU O PODZIAŁ NA GRUPY C i D

Na podstawie uzyskanych wyników stężenia badanych cytokin (G-CSF, TNF- α , IL-6) oraz leukocytów i CRP w okresie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu analizowano wartość predykcyjną ww. parametrów w przewidywaniu wystąpienia wrodzonego zakażenia noworodka. Pole pod krzywą ROC nie przekroczyło wartości 0,8 dla żadnego z testów oceniających możliwość wystąpienia wrodzonego zakażenia noworodka na podstawie stężenia G-CSF, IL-6 i leukocytów w surowicy krwi matki zarówno w okresie ≤ 6 godzin od PPRM, jak i ≤ 12 godzin od porodu. Podobne rezultaty uzyskano dla sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka. Natomiast wartość predykcyjna stężenia TNF- α w czasie ≤ 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki mieściła się w zakresie wartości wyników średnich dla możliwości wystąpienia wrodzonego zakażenia noworodka. Proponowany punkt odcięcia wyniósł 1,619 pg/ml, czułość i specyficzność miała wartość odpowiednio 70,6 i 71,6%. Graficzne przedstawienie tej analizy umieszczono na rycinie 13. Pole pod krzywą ROC dla testu oceniającego predykcję wrodzonego zakażenia noworodka na podstawie stężenia CRP zmierzonego w przeciągu 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki miało wartość 0,77 i było największe z analizowanych parametrów. Proponowany

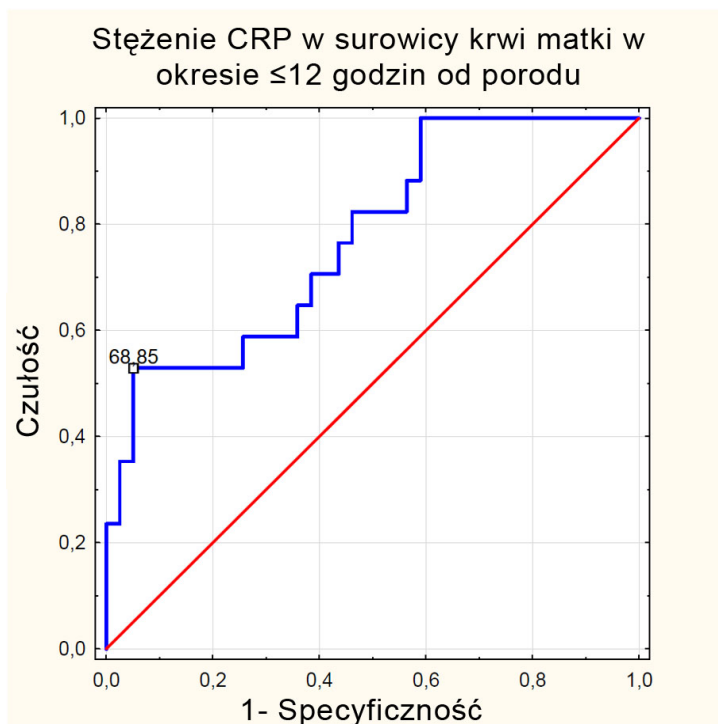
punkt odcięcia miał wartość 68,85 mg/ml, a czułości i specyficzności odpowiednio 52,9 i 94,9%. Na rycinie 14 umieszczono graficzne przedstawienie tej analizy. Szczegółowe wyniki oceny wartości predykcyjnej wrodzonego zakażenia noworodka na podstawie stężenia G-CSF, TNF- α , IL-6, leukocytów oraz CRP w surowicy krwi matki, a także na podstawie stężenia sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka przedstawiono w tabeli 24.

Tabela 24. Predykcja wrodzonego zakażenia noworodka na podstawie stężenia G-CSF, TNF- α , IL-6, leukocytów i CRP w surowicy krwi matki w okresie ≤ 6 godzin od PPRM i ≤ 12 godzin od porodu oraz stężenia sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka.

WRODZONE ZAKAŻENIE NOWORODKA	AUC	SE	Przedział ufności 95% CI	Proponowany punkt odcięcia	Czułość (%)	Specyficzność (%)
stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (pg/ml)	0,57	0,087	0,4-0,741	187,343	41,2	84,6
stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (pg/ml)	0,522	0,091	0,343-0,701	318,155	5,9	100
stężenie TNF- α w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (pg/ml)	0,461	0,088	0,288-0,633	2,461	5,9	97,4
stężenie TNF- α w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (pg/ml)	0,680	0,075	0,533-0,827	1,619	70,6	71,8
stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (pg/ml)	0,505	0,094	0,321-0,690	10,584	23,5	92,3
stężenie IL-6 surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (pg/ml)	0,545	0,084	0,381-0,710	13,455	5,9	100
stężenie sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka (ng/ml)	0,480	0,089	0,305-0,654	1325,05	5,9	100
stężenie leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (G/l)	0,349	0,77	0,198-0,500	15,00	5,9	89,7
stężenie leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (G/l)	0,523	0,087	0,352-0,694	31,96	11,8	100
stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (mg/l)	0,478	0,083	0,315-0,642	10,00	5,9	94,9
stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (mg/l)	0,77	0,670	0,642-0,905	68,85	52,9	94,9



Ryc. 13. Predykcja wrodzonego zakażenia noworodka na podstawie stężenia TNF- α w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu.



Ryc. 14. Predykcja wrodzonego zakażenia noworodka na podstawie stężenia CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu.

4.3. PODZIAŁ III – GRUPY E i F (E – PACJENTKI BEZ CECH ZAKAŻENIA, F – PACJENTKI Z CECHAMI ZAKAŻENIA)

4.3.1. WYNIK POŁOŻNICZY ORAZ WYNIKI BADAŃ LABORATORYJNYCH MATKI

Pomiędzy grupami E i F nie znaleziono istotnych statystycznie różnic w przypadku wieku ciężarnych, wieku ciążowego w chwili pęknięcia błon płodowych czy wieku ciążowego w momencie porodu. Natomiast długość okresu od pęknięcia błon płodowych do porodu była znacząco różna w obydwu grupach. W grupie pacjentek niezakażonych okres ten przeciętnie wynosił 2, a w grupie pacjentek zakażonych 4 dni. Spośród ocenianych parametrów stanu zapalnego, tylko CRP badane w czasie ≤ 12 godzin od porodu wykazywało istotną statycznie różnicę pomiędzy pacjentkami z obu grup. Stężenie CRP w drugim oznaczeniu wynosiło odpowiednio dla grupy E i F 23,83 mg/l oraz 112,61 mg/l. Porównanie badanych parametrów wyniku położniczego matki pomiędzy grupą E i F zostało przedstawione w tabeli 25.

Tabela 25. Wynik położniczy matki (grupy E i F).

	Grupa E pacjentki bez cech zakażenia	Grupa F pacjentki z cechami zakażenia	p
Wiek ciążowy w momencie PPRM (tyg.) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	34 ± 1,8 35 30/36	33 ± 2,5 34 30/36	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Wiek ciążowy w momencie porodu (tyg.) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	34 ± 1,7 35 30/38	34 ± 2,0 35 31/36	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Czas od PPRM do porodu (dni) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	4 ± 4,8 2 1/21	12 ± 16,2 4 1/57	p<0,001 Mann-Whitney Rank Sum Test
stężenie leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤6 godzin od PPRM (G/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	10,99 ± 2,18 11,00 6,00/15,00	9,48 ± 3,27 10,00 2,00/14,00	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤12 godzin od porodu (G/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	17,12 ± 6,32 15,62 6,60/34,76	16,56 ± 5,26 15,40 9,20/24,45	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤6 godzin od PPRM (mg/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	4,71 ± 4,4 3,21 0,91/10,00	8,92 ± 8,2 4,22 1,4/10,00	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤12 godzin od porodu (mg/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	25,13 ± 17,6 23,83 1,61/62,4	130,41 ± 56,9 112,61 32,18/223,4	p<0,001 Mann-Whitney Rank Sum Test

W obu grupach stężenie leukocytów oraz CRP w surowicy krwi matki w przeciągu 12 godzin od porodu wzrastało i wykazywało istotną statystycznie różnicę w stosunku do wartości w okresie ≤6 godzin od PROM. Szczegółowe dane dotyczące stężenia leukocytów oraz CRP dla grupy E i F w zależności od czasu pobrania próbki do badania przedstawiono w tabeli 26.

Tabela 26. Stężenie leukocytów oraz CRP w surowicy krwi matki w zależności od czasu pobrania próbki (≤ 6 godzin od PPRM oraz ≤ 12 godzin od porodu) (grupy E i F).

	Stężenie leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (G/l) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	Stężenie leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (G/l) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	<i>p</i>	Stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (mg/l) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	Stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (mg/l) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	<i>p</i>
Grupa E pacjentki bez cech zakażenia	10,99 \pm 2,18 11,00 6,00/15,00	17,12 \pm 6,32 15,62 6,60/34,76	<0,001 Wilcoxon Signed Rank Test	4,71 \pm 4,4 3,21 0,91/10,00	25,13 \pm 17,6 23,83 1,61/62,4	<0,001 Wilcoxon Signed Rank Test
Grupa F pacjentki z cechami zakażenia	9,48 \pm 3,27 10,00 2,00/14,00	16,56 \pm 5,26 15,40 9,20/24,45	<0,001 Wilcoxon Signed Rank Test	8,92 \pm 8,2 4,22 1,41/10,00	130,41 \pm 56,9 112,61 32,18/223,4	<0,001 Wilcoxon Signed Rank Test

Nie notowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami w sposobie zakończenia ciąży. W grupie pacjentek bez cech zakażenia 9 z 45, a w grupie pacjentek z cechami zakażenia 6 z 11 miało wykonane cięcie cesarskie. Pomiedzy grupami zauważono jednak istotną statystycznie różnicę w udziale procentowym porodów po 48 godzinach od pęknięcia błon płodowych. Ponad 80% porodów w grupie F odbyło się po 48 godzinach od pęknięcia błon płodowych, w porównaniu do 40 % w grupie E. Szczegółowe dane dotyczące sposobu zakończenia ciąży w zależności od przynależności do grupy E i F przedstawiono w tabeli 27.

Tabela 27. Sposób zakończenia ciąży (grupy E i F)

	Grupa E pacjentki bez cech zakażenia	Grupa F pacjentki z cechami zakażenia	<i>p</i>
Poród siłami natury liczba w grupie odsetek w grupie (%)	36/45 80,00	5/11 45,46	ns Fischer Exact Test
Cięcie cesarskie liczba w grupie odsetek w grupie (%)	9/45 20,00	6/11 54,54	ns Fischer Exact Test
Poród ≤ 48h liczba w grupie odsetek w grupie (%)	27/45 60,00	2/11 18,19	p<0,05 Chi Square Test
Poród >48h liczba w grupie odsetek w grupie (%)	18/45 40,00	9/11 81,81	p<0,05 Chi Square Test

4.3.2. WYNIK POŁOŻNICZY ORAZ WYNIKI BADAŃ LABORATORYJNYCH NOWORODKA

Noworodki kobiet z cechami zakażenia w porównaniu do noworodków pacjentek niezakażonych miały wyższe stężenie leukocytów w surowicy krwi, dłużej były hospitalizowane oraz uzyskiwały niższą punktację w skali Apgar w 5 minucie życia. Średnie stężenie leukocytów wynosiło odpowiednio dla grupy E i F 15,97 oraz 21,25 G/l, a średnia długość hospitalizacji w Oddziale Neonatologicznym 9 oraz 19 dni. Noworodki matek niezakażonych w 5 minucie życia uzyskiwały średnio 9, a noworodki matek zakażonych 8 punktów w skali Apgar.

Nie obserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami w przypadku średniej masy urodzeniowej noworodków, średniej wartości pH tętniczej oraz żylniej krwi pępowinowej, punktacji w skali Apgar w 1 minucie życia czy średniego stężenia CRP. Porównanie badanych parametrów wyniku położniczego noworodka pomiędzy grupą E i F zostało przedstawione w tabeli 28.

Tabela 28. Wynik położniczy noworodka (grupy E i F).

	Grupa E pacjentki bez cech zakażenia	Grupa F pacjentki z cechami zakażenia	p
Masa urodzeniowa noworodka (g) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	2533 ± 474,52 2590 1425/3390	2312 ± 610,10 2440 1380/3360	ns t-Test
pH pępowinowej krwi tętniczej średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	7,31 ± 0,10 7,33 7,13/7,51	7,27 ± 0,06 7,27 7,17/7,35	ns t-Test
pH pępowinowej krwi żyłnej średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	7,29 ± 0,09 7,31 7,08/7,42	7,27 ± 0,09 7,28 7,09/7,42	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Długość hospitalizacji w Oddziale Neonatologicznym (dni) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	9 ± 6,0 7 3/30	19 ± 14,5 12 6/50	p<0,05 Mann-Whitney Rank Sum Test
Liczba wentylowanych noworodków liczba w grupie odsetek w grupie (%)	5/45 11,11	3/11 27,27	ns Fischer Exact Test
Punktacja w skali Apgar 1' średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	8 ± 2,2 9 1/10	7 ± 2,9 7 3/10	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Punktacja w skali Apgar 5' średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	9 ± 1,5 10 3/10	8 ± 1,7 8 6/10	p<0,05 Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie leukocytów w surowicy krwi noworodka (G/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	16,53 ± 6,8 15,97 0,5/16,5	22,662 ± 12,58 21,25 8,0/57,0	p<0,05 Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie CRP w surowicy krwi noworodka (mg/l) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	4,61 ± 6,9 1,62 0,11/37,12	25,52 ± 40,1 4,51 0,22/120,51	ns Mann-Whitney Rank Sum Test

U noworodków pacjentek, u których rozpoznano zakażenie wewnątrzrodniowe lub zakażenie w okresie porożu, zdecydowanie częściej stwierdzano cechy zakażenia wrodzonego. Ponad 80% noworodków kobiet z grupy F wykazywało cechy zakażenia wrodzonego w porównaniu do zaledwie 17% noworodków matek zdrowych. Szczegółowe dane dotyczące wrodzonego zakażenia noworodka w zależności od przynależności do grupy E i F przedstawiono w tabeli 29.

Tabela 29. Wrodzone zakażenie noworodka (grupy E i F).

	Grupa E pacjentki bez cech zakażenia	Grupa F pacjentki z cechami zakażenia	p
Noworodki z cechami zakażenia liczba w grupie odsetek w grupie (%)	8/45 17,78	9/11 81,82	p<0,001 Fischer Exact Test
Noworodki bez cech zakażenia liczba w grupie odsetek w grupie (%)	37/45 82,22	2/11 18,18	p<0,001 Fischer Exact Test

4.3.3. BADANE CYTOKINY PROZAPALNE

Szczegółowe wyniki badanych cytokin w zależności od przynależności do grupy E lub F oraz w zależności od czasu pobrania próbki do badania przedstawiono w tabeli 30 i 31.

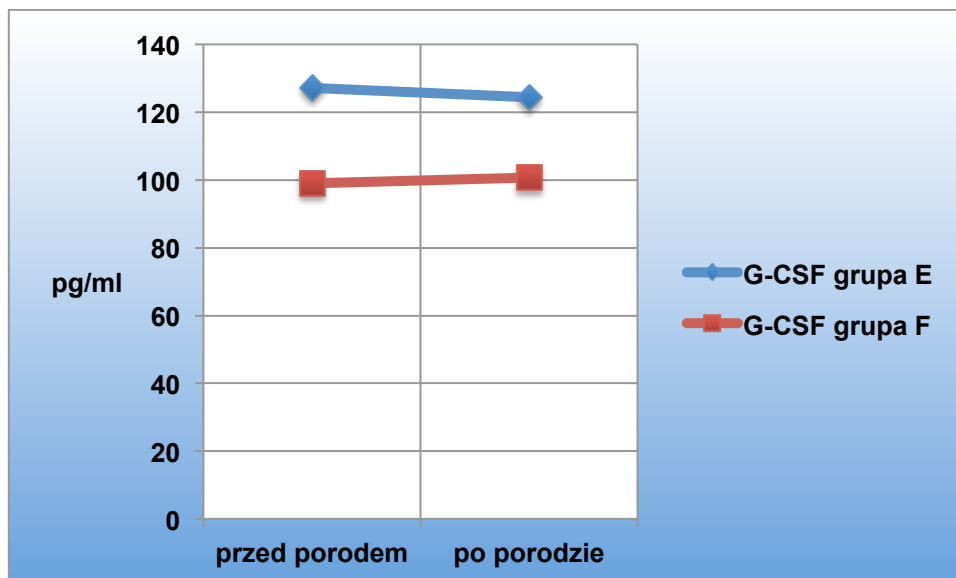
Tabela 30. Badane cytokiny w zależności od przynależności do grupy E lub F.

	Grupa E pacjentki bez cech zakażenia	Grupa F pacjentki z cechami zakażenia	p
Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤6 godzin od PPRM (pg/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	127,09 ± 106,01 94,53 19,53/546,95	143,48 ± 78,03 124,43 35,96/254,89	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤12 godzin od porodu (pg/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	99,01 ± 69,95 72,51 11,32/288,06	121,45 ± 99,05 100,77 17,89/318,16	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie TNF-α w surowicy krwi matki w czasie ≤6 godzin od PPRM (pg/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	1,50 ± 0,61 1,37 0,83/4,49	1,45 ± 0,49 1,25 0,79/2,46	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie TNF-α w surowicy krwi matki w czasie ≤12 godzin od porodu (pg/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	1,59 ± 0,85 1,36 0,65/5,55	2,28 ± 1,08 1,79 1,19/4,83	p<0,01 Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤6 godzin od PPRM (pg/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	5,51 ± 3,64 4,09 0,58/13,16	4,93 ± 4,18 2,96 0,68/10,87	ns Mann-Whitney Rank Sum Test
Stężenie IL-6 w czasie ≤12 godzin od porodu (pg/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	7,57 ± 3,23 5,98 4,08/13,46	7,72 ± 3,45 8,09 1,83/13,20	ns t-Test
stężenie sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka (ng/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	872,66 ± 177,55 865,35 529,05/1325,05	869,15 ± 178,55 855,60 669,60/1136,75	ns t-Test

Tabela 31. Badane cytokiny w zależności od czasu pobrania próbki (przed i po porodzie) (grupy E i F).

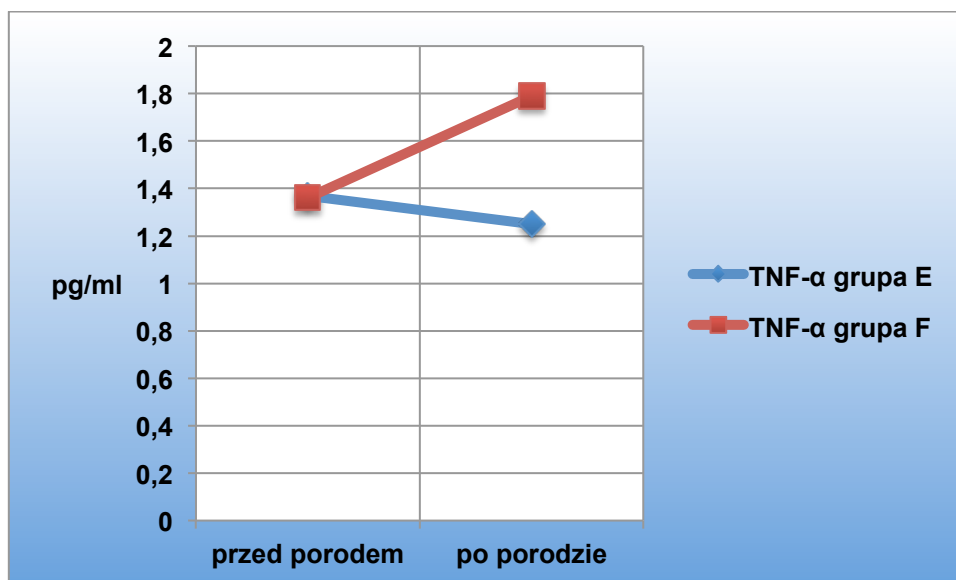
	Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤6 godzin od PPRM (pg/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤12 godzin od porodu (pg/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	<i>p</i>
Grupa E pacjentki bez cech zakażenia	127,09 ± 106,01 94,531 19,53/546,95	99,01 ± 69,95 72,51 11,32/288,06	ns paired t-Test
Grupa F pacjentki z cechami zakażenia	143,48 ± 78,03 124,43 35,96/254,89	121,45 ± 99,05 100,77 17,89/318,16	ns Wilcoxon Signed Rank Test
	Stężenie TNF-α w surowicy krwi matki w czasie ≤6 godzin od PPRM (pg/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	Stężenie TNF-α w surowicy krwi matki w czasie ≤12 godzin od porodu (pg/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	<i>p</i>
Grupa E pacjentki bez cech zakażenia	1,50 ± 0,61 1,37 0,83/4,49	1,59 ± 0,85 1,36 0,65/5,55	ns Wilcoxon Signed Rank Test
Grupa F pacjentki z cechami zakażenia	1,45 ± 0,49 1,25 0,79/2,46	2,28 ± 1,08 1,79 1,19/4,83	p<0,05 Wilcoxon Signed Rank Test
	Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤6 godzin od PPRM (pg/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤12 godzin od porodu (pg/ml) średnia (± SD) mediana minimum/maksimum	<i>p</i>
Grupa E pacjentki bez cech zakażenia	5,51 ± 3,64 4,09 0,58/13,16	7,57 ± 3,23 5,98 4,08/13,46	ns Wilcoxon Signed Rank Test
Grupa F pacjentki z cechami zakażenia	4,93 ± 4,18 2,96 0,68/10,87	7,72 ± 3,45 8,09 1,83/13,20	p<0,05 Wilcoxon Signed Rank Test

Pomiędzy grupami E i F nie notowano istotnych statystycznie różnic w przypadku stężenia G-CSF, zarówno w pierwszym, jak i drugim oznaczeniu. W obu grupach stężenie tej cytokiny po porodzie pozostawało na tym samym poziomie wartości. Stężenia G-CSF zmierzone w przeciągu 6 godzin od PPRM oraz w okresie 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki w grupach E i F przedstawiono na rycinie 15.



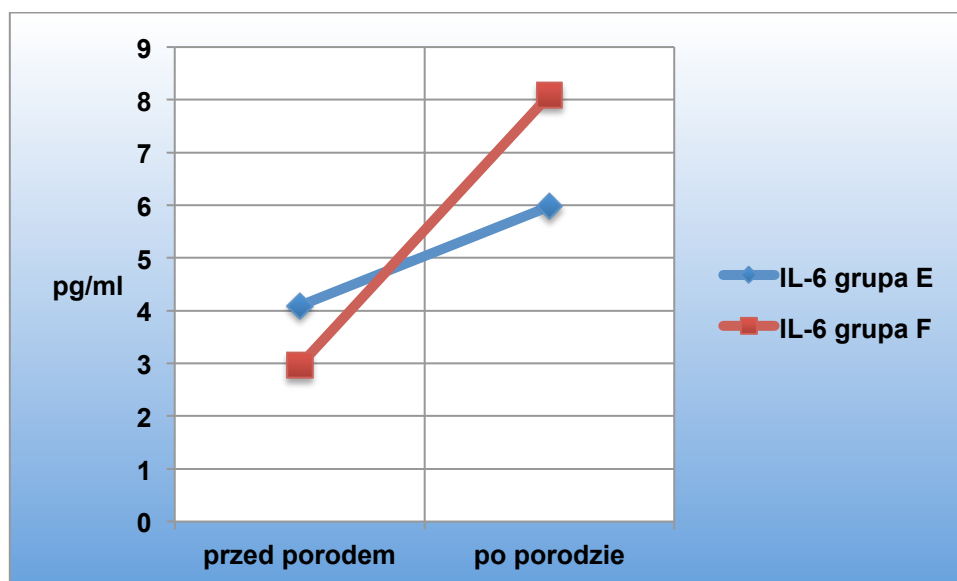
Ryc. 15. Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM oraz ≤ 12 godzin od porodu (grupy E i F).

Statystycznie istotną różnicę zaobserwowano pomiędzy grupami E i F w przypadku stężenia TNF- α w drugim oznaczeniu, które wynosiło odpowiednio 1,36 oraz 1,79 pg/ml. Stężenie tej cytokiny w czasie ≤ 6 godzin od PPRM w obu grupach było porównywalne. Stężenia TNF- α zmierzone w przeciągu 6 godzin od PPRM oraz w okresie 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki w grupach E i F przedstawiono na rycinie 16.



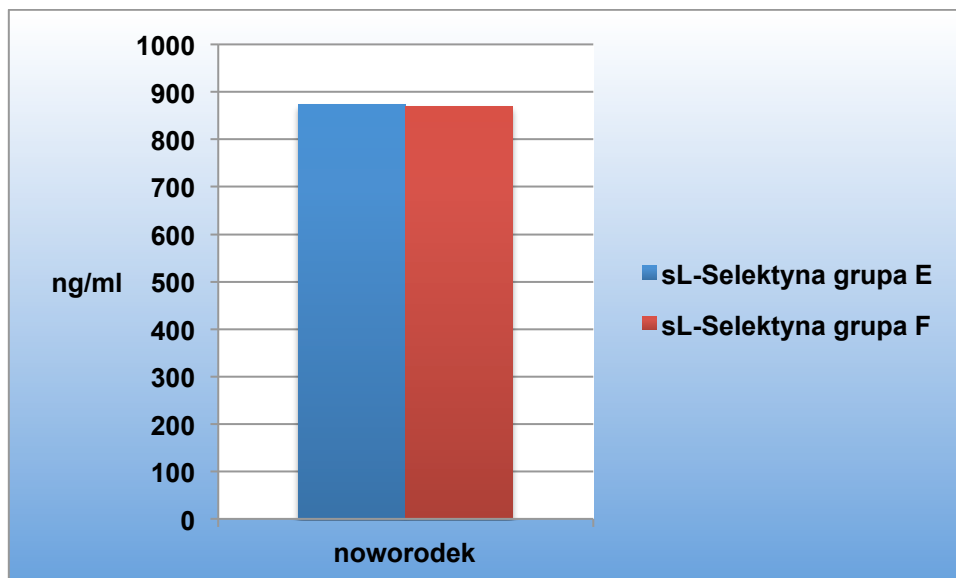
Ryc. 16. Stężenia TNF- α w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM oraz ≤ 12 godzin od porodu (grupy E i F).

W przypadku stężenia IL-6 w surowicy krwi matki w pierwszym oraz w drugim oznaczeniu nie wykazano istotnej statystycznie różnicy pomiędzy grupami E i F. Po porodzie stężenie IL-6 znacząco rosło w porównaniu do wartości sprzed porodu (2,95 pg/ml) i w grupie F wynosiło 8,09 pg/ml, a w grupie pacjentek bez cech zakażenia pozostawało na tym samym poziomie wartości. Stężenia IL-6 w pierwszym oraz drugim oznaczeniu w surowicy krwi matki w grupach E i F przedstawiono na rycinie 17.



Ryc. 17. Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPROM oraz ≤ 12 godzin od porodu (grupy E i F).

Noworodki kobiet z obu grup nie różniły się między sobą w sposób istotny statystycznie w przypadku stężenia sL-Selektyny w surowicy krwi obwodowej. Stężenie sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka w zależności od przynależności do grupy E lub F przedstawiono na rycinie 18.



Ryc. 18. Stężenie sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka w zależności od przynależności do grupy E lub F.

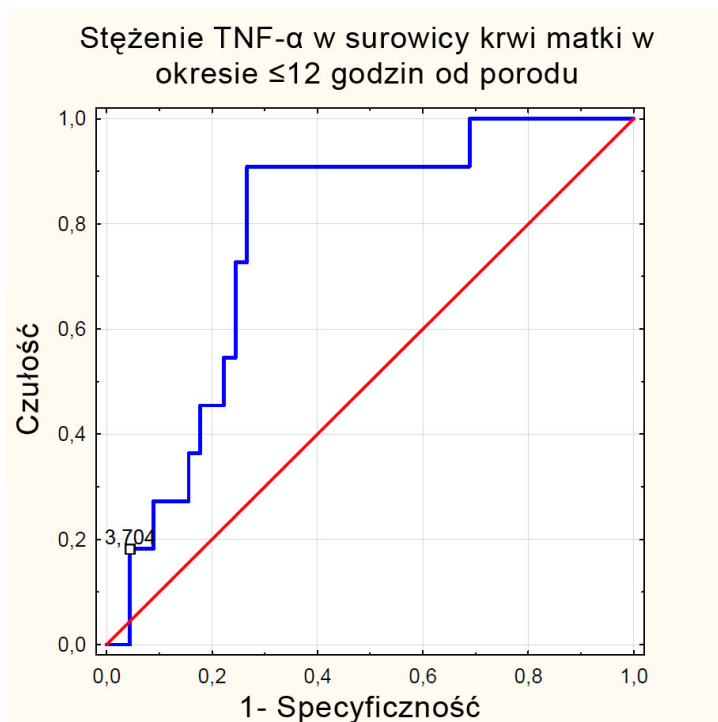
4.3.4. ANALIZA KRZYWYCH ROC W OPARCIU O PODZIAŁ NA GRUPY E I F

Na podstawie uzyskanych wyników stężenia badanych cytokin (G-CSF, TNF- α , IL-6) oraz leukocytów i CRP w okresie ≤ 6 godzin od PPRM oraz ≤ 12 godzin od porodu analizowano wartość predykcyjną ww. parametrów w przewidywaniu wystąpienia zakażenia u matki. Pole pod krzywą ROC nie przekroczyło wartości 0,8 dla testów oceniających możliwość wystąpienia zakażenia u matki na podstawie stężenia G-CSF, IL-6 i leukocytów w surowicy krwi matki, zarówno w okresie ≤ 6 godzin od PPRM, jak i ≤ 12 godzin od porodu. Podobne rezultaty uzyskano dla sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka. Natomiast wartość predykcyjna stężenia TNF- α w przeciągu ≤ 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki mieściła się w zakresie wartości wyników satysfakcjonujących dla możliwości wystąpienia zakażenia u matki przy proponowanym punkcie odcięcia 3,704 pg/ml oraz czułości i specyficzności wynoszącej odpowiednio 18,2 i 95,6%. Graficzne przedstawienie tej analizy umieszczono na rycinie 19. Pole pod krzywą ROC dla testu oceniającego predykcję zakażenia u matki na podstawie poporodowego stężenia CRP w surowicy krwi matki miało wartość 0,962 przy proponowanej wartości punktu odcięcia 68,85 mg/ml oraz czułości i specyficzności wynoszącej odpowiednio 90,6 i 97,8%. Tak wysoki wynik może być jednak konsekwencją niewielkiej liczby kobiet przypisanych do grupy F (pacjentki z cechami zakażenia – 11) oraz włączenia do tej grupy zarówno pacjentek z rozpoznaną infekcją wewnątrzrodniową w okresie okołoporodowym a także kobiet z zakażeniem w okresie

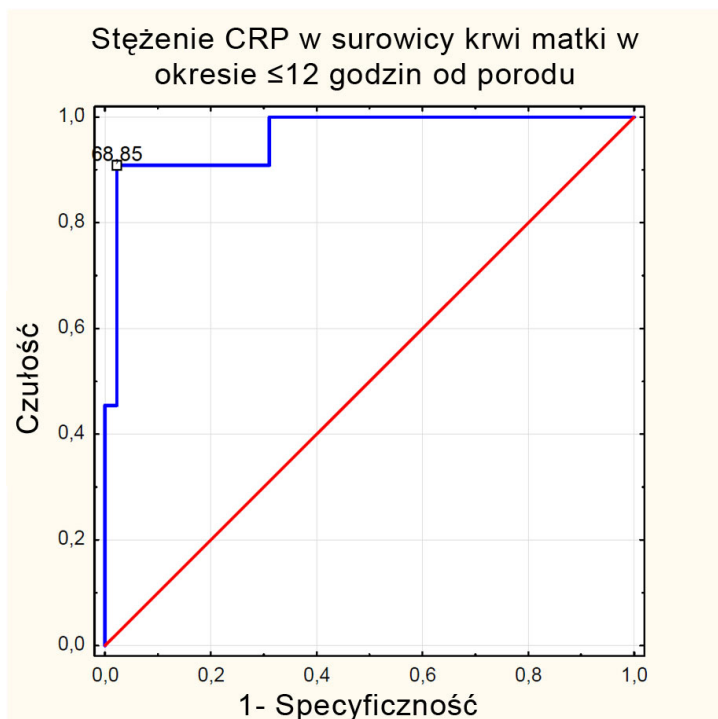
połogu. Uzyskany rezultat prawdopodobnie byłyby trudne do uzyskania w liczniejszej grupie badanych kobiet. Na rycinie 20 umieszczono graficzne przedstawienie tej analizy. Szczegółowe wyniki oceny wartości predykcyjnej zakażenia u matki na podstawie stężenia G-CSF, TNF- α , IL-6, leukocytów oraz CRP (w pierwszym i drugim oznaczeniu) w surowicy krwi matki, a także na podstawie stężenia sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka przedstawiono w tabeli 32.

Tabela 32. Predykcja zakażenia u matki na podstawie stężenia G-CSF, TNF- α , IL-6, leukocytów i CRP w czasie ≤ 6 godzin od PPRM oraz ≤ 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki oraz stężenia sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka.

ZAKAŻENIE U MATKI	AUC	SE	Przedział ufności 95% CI	Proponowany punkt odcięcia	Czułość (%)	Specyficzność (%)
Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (pg/ml)	0,610	0,098	0,419-0,802	546,951	0	97,8
Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (pg/ml)	0,531	0,112	0,312-0,750	318,155	9,1	100
Stężenie TNF- α w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (pg/ml)	0,484	0,099	0,289-0,679	2,461	9,1	98,7
Stężenie TNF- α w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (pg/ml)	0,778	0,069	0,643-0,912	3,704	18,2	95,6
Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (pg/ml)	0,430	0,110	0,215-0,646	13,156	0	97,8
Stężenie IL-6 surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (pg/ml)	0,476	0,092	0,295-0,657	13,455	9,1	100
Stężenie sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka (ng/ml)	0,487	0,104	0,283-0,690	1325,1	0	97,8
Stężenie leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (G/l)	0,377	0,088	0,204-0,549	15,00	0	88,9
Stężenie leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (G/l)	0,471	0,102	0,271-0,669	34,76	0	97,8
Stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (mg/l)	0,494	0,099	0,459-0,848	10,00	5,9	94,9
Stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (mg/l)	0,962	0,030	0,903-0,988	68,85	90,6	97,8



Ryc. 19. Predykcja wystąpienia zakażenia u matki na podstawie stężenia TNF- α w surowicy krwi matki w okresie ≤ 12 godzin od porodu.



Ryc. 20. Predykcja wystąpienia zakażenia u matki na podstawie stężenia CRP w surowicy krwi matki w okresie ≤ 12 godzin od porodu.

5. DYSKUSJA

Związek pomiędzy przedwczesnym pęknięciem błon płodowych przed terminem, a tym samym porodem przedwczesnym oraz zwiększonym ryzykiem zakażenia matki i płodu (noworodka), a w konsekwencji pogorszeniem wyniku położniczego jest szeroko udokumentowany w piśmiennictwie. Podobnie korelacja pomiędzy porodem przedwczesnym, przedwczesnym pęknięciem błon płodowych, zakażeniem wewnątrzrodniowym czy wrodzonym zakażeniem noworodka oraz zmianą osoczowego stężenia G-CSF, IL-6, TNF-alfa, CRP i leukocytów także wydaje się być jednoznaczna. Infekcja wewnątrzrodniowa uważana jest przez licznych autorów za jeden z najsilniejszych czynników warunkujących pogorszenie wyniku położniczego matki i dziecka w przypadku PPRM, a możliwość przewidywania jego wystąpienia stanowiłaby podstawę w doskonaleniu sposobu postępowania w przypadku PPRM. Stężenie CRP oraz leukocytów w surowicy krwi matki, jako wykładników toczącego się zakażenia należy obecnie do podstawowych badań laboratoryjnych w przypadku przedwczesnego pęknięcia błon płodowych, a ich związek z toczącą się infekcją pozostaje niezaprzeczalny, co zostało potwierdzone w omawianej pracy.

5.1. KONSEKWENCJE WYDŁUŻENIA OKRESU OD PĘKNIĘCIA BŁON PŁODOWYCH DO PORODU

W prezentowanym opracowaniu zaobserwowano, że przedłużenie okresu od pęknięcia błon płodowych do porodu powyżej 48 godzin wiązało się ze z gorszym wynikiem położniczym zarówno matki, jak i noworodka. Częściej obserwowano zakażenie ciężarnej i/lub położnicy, noworodki dłużej przebywały w Oddziale Neonatologicznym, a liczba dzieci z zaburzeniami oddychania wymagającymi wentylacji była siedmiokrotnie wyższa, w porównaniu do kobiet z grupy, u których poród odbył się przed upływem drugiej doby od PPRM, pomimo podobnego odsetka noworodków z cechami wrodzonego zakażenia w obu grupach.

Nieznacznie inne wyniki uzyskano w pracy Melamed i wsp. z 2011 roku, gdzie wynik położniczy noworodka z ciąży powikłanej PPRM pomiędzy 28+0 a 36+6 tygodni ciąży porównywano z wynikiem położniczym kobiet doświadczających porodu przedwczesnego na analogicznym etapie ciąży, jednak bez przedwczesnego pęknięcia błon płodowych przed terminem [57]. Do grupy badanej zakwalifikowano retrospektywnie 488 kobiet bez współistniejących przewlekłych chorób ogólnoustrojowych, bez chorób infekcyjnych w chwili PPRM oraz bez wykładników rozpoczynającego się zakażenia wewnątrzodniowego. Złożony negatywny wynik położniczy w pracy Melamed i wsp. definiowany był jako wystąpienie co najmniej jednego powikłania z niżej wymienionych:

- a) problemy dotyczące układu oddechowego noworodka (zespół zaburzeń oddychania, przyspieszenie oddechu, dysplazja oskrzelowo-płucna, bezdech, konieczność wentylacji noworodka),
- b) problemy związane z czynnikiem infekcyjnym u noworodka (bakteriemia, posocznica, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, wrodzone zapalenie płuc),
- c) problemy neurologiczne u noworodka (drgawki, zmniejszone napięcie mięśniowe, krwotok do komór mózgu, leukomalacja okołokomorowa),
- d) inne (zgon noworodka, martwicze zapalenie jelit, konieczność intensywnej fototerapii, ciężka hipoglikemia, hipotermia).

Postępowanie zachowawcze w przypadku PPRM nie odbiegało znacząco od przyjętego w powyższej rozprawie doktorskiej. Różnice dotyczyły sposobu antybiotykoterapii (Ampicylina 4x2,0 g i.v. oraz Roxytromycyna 2x0,15 g p.o. przez 2 pierwsze dni, a następnie Ampicylina 3x0,25 g p.o. oraz Roxytromycyna 2x0,15 g p.o. przez 5 kolejnych dni) oraz faktu indukcji porodu w chwili ukończenia 34 tygodnia ciąży. Średni wiek pacjentek uczestniczących w analizie wynosił $29,9 \pm 5,0$ lat, średni wiek ciążowy w momencie porodu $32,5 \pm 1,8$ tygodni ciąży, natomiast średnia masa urodzeniowa noworodka miała wartość 1876 ± 431 g. Noworodki z grupy badanej charakteryzowały się wyższym współczynnikiem umieralności okołoporodowej, częściej były przyjmowane do Oddziału Intensywnej Opieki Neonatologicznej oraz prezentowały bardziej nasilone zaburzenia oddychania. Częściej także, w porównaniu do dzieci urodzonych przedwcześnie ale bez PPRM, notowano u nich zaburzenia neurologiczne. Wrodzone zakażenie noworodka stwierdzane było z podobną częstością w obu grupach, jednak w grupie kobiet z PPRM złożony negatywny wynik położniczy był o 40% wyższy w przypadku długości okresu od PPRM do porodu powyżej

48 godzin i 70% wyższy w przypadku wydłużenia się tego okresu powyżej 7 dni w odniesieniu do grupy kontrolnej (poród przedwczesny bez PPRM) – (OR 1,4; 95% CI 1,1–1,9; oraz OR 1,7; 95% CI 1,4–2,2). Analizie poddano także wpływ długości okresu od PPRM do porodu na wynik położniczy noworodka tylko w grupie badanej i ponownie stwierdzono, że im jest on dłuższy, tym ryzyko wystąpienia złożonego negatywnego wyniku położniczego noworodka jest większe. Zauważono również, iż niższy wiek ciążowy, nosicielstwo paciorkowców grupy B, niższa wartość współczynnika płynu owodniowego (AFI) oraz płeć męska stanowiły dodatkowy czynniki ryzyka wystąpienia negatywnego złożonego wyniku położniczego, podczas gdy wiek matki, masa urodzeniowa noworodka, sposób ukończenia ciąży oraz zastosowanie steroidów nie wykazywało takiej korelacji. Autorzy tej pracy podkreślają także korzyści z przedłużenia okresu od PPRM do porodu w postaci zwiększenia dojrzałości płuc płodu oraz wzajemną relację obu przeciwstawnych trendów w zależności od wieku ciążowego, w którym dochodzi do PPRM. Melamed i wsp. podkreślają, iż granicą powyżej której dalsze przedłużenie ciąży jest niekorzystne, zarówno dla matki jak i płodu, jest 34 tydzień ciąży. Autorzy są zgodni także co do konieczności wdrożenia postępowania zachowawczego w przypadku PPRM pomiędzy 28 a przed ukończeniem 34 tygodnia ciąży. W przypadku prezentowanej pracy nieznacznie odmienny rezultat przedłużenia okresu od PPRM do porodu wynikać może z wyższego o blisko 3 pełne tygodnie średniego wieku ciążowego w chwili porodu (35 ± 2 tyg. ciąży) oraz z faktu nie indukowania porodu w momencie ukończenia 34 tygodnia ciąży, jak to miało miejsce w przypadku badania Melamed i wsp. [57].

W pracy Neerhof i wsp., podobnie jak w pracy Melamed i wsp. stwierdzono, że ryzyko wystąpienia niekorzystnego wyniku położniczego noworodka jest niższe, gdy do PPRM dochodzi po 34 tygodniu ciąży [74]. Analizie poddano 236 kobiet doświadczających przedwczesnego pęknięcia błon płodowych pomiędzy 32 a 36 tygodniem ciąży. U wszystkich pacjentek po wykluczeniu przeciwwskazań do kontynuowania ciąży wdrożono postępowanie zachowawcze, podczas którego ciężarnym nie podawano jednak profilaktycznie antybiotyków, leków hamujących czynność skurczową macicy ani steroidów. W przypadku nosicielstwa paciorkowców grupy B stosowano śródporodową profilaktyczną antybiotykoterapię. Zaledwie 10% kobiet włączonych do badania urodziło w czasie ≥ 48 godzin od PPRM, a tylko 2,5% ≥ 7 dni. W przypadku przedwczesnego pęknięcia błon płodowych powyżej 34 tygodnia ciąży, w żadnym przypadku nie stwierdzono, aby czas od PPRM do porodu był dłuższy niż 7 dni. Zarówno długość pobytu noworodków w Oddziale

Neonatologicznym była zdecydowanie krótsza ($p < 0,05$), jak i częstość zespołu zaburzeń oddychania ($p < 0,049$) była niższa w przypadku, gdy do PPROM dochodziło po 34 tygodniu ciąży. Natomiast częstość wrodzonego zakażenia noworodka oscylowała w granicach 2% i była niezależna od wieku ciążowego, w którym dochodziło do PPROM [74].

W wielośrodkowych badaniach klinicznych z 2012 roku – PROMEXIL-2 porównywano wynik położniczy noworodka oraz matki w przypadku zdiagnozowania PPROM pomiędzy 34+0 a 36+6 tygodniem ciąży w zależności od sposobu postępowania w przypadku PPROM [100]. Do badania ostatecznie zakwalifikowano 192 pacjentki w pojedynczej oraz 3 w ciąży bliźniaczej z rozpoznaniem przedwczesnym pęknięciem błon płodowych pomiędzy 34+0 a 36+6 tygodniem ciąży, u których nie doszło do porodu przez 24 godziny od stwierdzenia odpływania płynu owodniowego. Uczestniczki analizy następnie randomizowano w celu przydzielenia jednego z dwóch sposobów postępowania – ukończenie ciąży w wyniku indukcji porodu w okresie do 24 godzin lub wdrożenie postępowania zachowawczego. Średni wiek ciążowy w momencie porodu wynosił 35+6 tygodni ciąży. U pacjentek, u których indukowano akcję porodową poród odbywał się średnio o 3,5 dnia wcześniej niż w przypadku postępowania wyczekującego. Podobnie jak w prezentowanym opracowaniu nie zauważono różnic pomiędzy grupami w sposobie zakończenia ciąży oraz w częstości wczesnej posocznicy noworodkowej (RR 0,74; 95% CI 0,17–3,2), a noworodki przyjęte do Oddziału Neonatologicznego z grupy, w której indukowano poród były krócej hospitalizowane (2,0 vs. 7,0 dni, MD–5,0; 95% CI 9,0–1,0). Liczba matek z cechami zakażenia była zdecydowanie większa w grupie kobiet, u których wdrożono postępowanie wyczekujące w porównaniu do pacjentek zakwalifikowanych do indukcji porodu (4 vs. 0; $p < 0,05$), co również korespondowało z wynikami uzyskanym w powyższym badaniu [100].

5.2. OZNACZENIE STĘŻENIA CYTOKIN W SUROWICY KRWI MATKI W PROGNOZOWANIU WYSTĄPIENIA ZAKAŻENIA U NOWORODKA I MATKI

We wszystkich grupach, poza pacjentkami, które urodziły w przeciągu 48 godzin od pęknięcia błon płodowych stężenie G-CSF pozostawało na tym samym poziomie wartości. W przypadku stężenia G-CSF w grupie A zauważono istotną statystycznie różnicę w stężeniu G-CSF w czasie ≤ 6 godzin od PPROM oraz ≤ 12 godzin od porodu. W powyższej analizie stwierdzono także, że matczyne osoczone stężenie G-CSF porównując wartości w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu pozostaje na tym samym poziomie, niezależnie od faktu stwierdzenia zakażenia u ciężarnej i/lub położnicy lub wrodzonego zakażenia

noworodka, co niestety wiązało się z niską przydatnością oznaczenia stężenia tej cytokiny w predykcji negatywnego wyniku położniczego matki i dziecka. Zestawienie wyników dotyczących stężenia G-CSF w czasie ≤ 6 godzin od PPRM oraz ≤ 12 godzin od porodu w poszczególnych grupach przedstawiono w tabeli 33.

Tabela 33. Stężenie G-CSF w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki w badanych grupach.

	Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (pg/ml) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (pg/ml) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	<i>p</i>
Grupa A poród ≤ 48h	137,5 \pm 118,0 95,8 19,5/546,9	77,4 \pm 49,6 68,7 11,8/223,2	<0,05 paired t-Test
Grupa B poród >48h	122,6 \pm 79,6 93,2 29,3/311,2	131,4 \pm 89,5 117,5 11,3/318,2	ns paired t-Test
Grupa C noworodki bez cech wrodzonego zakażenia	123,72 \pm 99,82 94,92 19,53/546,95	99,59 \pm 71,98 70,09 11,33/288,06	ns paired t-Test
Grupa D noworodki z cechami wrodzonego zakażenia	145,43 \pm 104,12 96,45 35,96/426,64	112,20 \pm 86,28 100,77 17,89/318,16	ns paired t-Test
Grupa E pacjentki bez cech zakażenia	127,09 \pm 106,01 94,531 19,53/546,95	99,01 \pm 69,95 72,51 11,32/288,06	ns paired t-Test
Grupa F pacjentki z cechami zakażenia	143,48 \pm 78,03 124,43 35,96/254,89	121,45 \pm 99,05 100,77 17,89/318,16	ns Wilcoxon Signed Rank Test

W grupie ciężarnych, które urodziły w przeciągu pierwszych 48 godzin od pęknięcia błon płodowych do porodu, pacjentek z niezakażonym noworodkiem oraz pacjentek niezakażonych stężenie TNF- α w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu było porównywalne. Natomiast stężenie tej cytokiny pomiędzy pierwszym a drugim oznaczeniem różniło się znacząco w przypadku porodu powyżej 48 godzin od pęknięcia błon płodowych, zakażenia noworodka oraz w przypadku zakażenia matki. Pacjentki z cechami zakażenia oraz te, u noworodków których rozpoznano zakażenie wrodzone, miały w surowicy krwi zdecydowanie wyższe stężenie TNF- α w zależności od czasu pobrania próbki. Konsekwencją tego było uzyskanie satysfakcjonującego poziomu wartości AUC testu badającego osoczowe stężenie TNF- α w czasie ≤ 12 godzin od porodu w predykcji zakażenia matki (AUC 0,778;

95% CI 0,643–0,912; czułość 18,2%; specyficzność 95,6%) oraz średniego w przewidywaniu wrodzonego zakażenia noworodka (AUC 0,680; 95% CI 0,533–0,827; czułość 70,6%; specyficzność 71,8%). Zestawienie wyników dotyczących stężenia TNF- α w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu w poszczególnych grupach przedstawiono w tabeli 34.

Tabela 34. Stężenie TNF- α w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki w badanych grupach.

	stężenie TNF-α w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPROM (pg/ml) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	stężenie TNF-α w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (pg/ml) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	<i>p</i>
Grupa A poród ≤ 48h	1,50 \pm 0,61 1,37 0,83/4,49	1,59 \pm 0,85 1,36 0,65/5,55	ns paired t- Test
Grupa B poród >48h	1,45 \pm 0,49 1,25 0,79/2,46	2,28 \pm 1,08 1,79 1,19/4,83	<0,05 paired t- Test
Grupa C noworodki bez cech wrodzonego zakażenia	1,51 \pm 0,63 1,38 0,83/4,49	1,60 \pm 0,89 1,45 0,65/5,55	ns paired t- Test
Grupa D noworodki z cechami wrodzonego zakażenia	1,43 \pm 0,49 1,25 0,79/2,46	2,03 \pm 0,98 1,70 1,11/4,83	<0,001 paired t- Test
Grupa E pacjentki bez cech zakażenia	1,50 \pm 0,61 1,37 0,83/4,49	1,59 \pm 0,85 1,36 0,65/5,55	ns Wilcoxon Signed Rank Test
Grupa F pacjentki z cechami zakażenia	1,45 \pm 0,49 1,25 0,79/2,46	2,28 \pm 1,08 1,79 1,19/4,83	<0,05 Wilcoxon Signed Rank Test

Nie zanotowano istotnych statystycznie różnic w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu w stężeniu IL-6 w surowicy krwi matki w przypadku porodu przed upływem pierwszych 48 godzin od pęknięcia błon płodowych oraz w grupie matek niezakażonych. Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki wyraźnie różniło się w drugim oznaczeniu w porównaniu do stężenia uzyskanego w chwili kwalifikacji do badania w grupie pacjentek, które urodziły po upływie 48 godzin od pęknięcia błon płodowych, grupie noworodków niezakażonych i noworodków z cechami zakażenia wrodzonego oraz w grupie matek zakażonych. Jednak uzyskane wyniki testu oceniającego matczyne stężenie IL-6, mimo stwierdzanych istotnych różnic w zależności od czasu pobrania próbki do badania, nie

charakteryzowały się wysoką wartością predykcyjną negatywnego wyniku położniczego matki i dziecka, a wartości AUC dla testu badającego stężenie tego białka w surowicy krwi matki oscylowały wokół wartości odpowiadającym przypadkowemu rozłożeniu w grupach. Zestawienie wyników dotyczących stężenia IL-6 w czasie ≤ 6 godzin od PPROM oraz ≤ 12 godzin od porodu w poszczególnych grupach przedstawiono w tabeli 35.

Tabela 35. Stężenie IL-6 w czasie ≤ 6 godzin od PPROM oraz ≤ 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki w badanych grupach.

	Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPROM (pg/ml) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (pg/ml) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	<i>p</i>
Grupa A poród ≤ 48 h	6,87 \pm 3,54 6,34 1,83/13,20	7,02 \pm 3,92 8,82 1,29/13,16	ns paired t-Test
Grupa B poród >48 h	3,65 \pm 2,58 2,95 0,58/10,32	8,57 \pm 3,05 9,38 3,30/13,45	<0,001 paired t-Test
Grupa C noworodki bez cech wrodzonego zakażenia	5,27 \pm 3,42 4,09 0,58/11,72	7,51 \pm 3,43 7,88 1,83/13,20	<0,05 paired t-Test
Grupa D noworodki z cechami wrodzonego zakażenia	5,68 \pm 4,43 2,96 0,84/13,16	8,10 \pm 3,37 8,09 0,84/13,16	<0,05 paired t-Test
Grupa E pacjentki bez cech zakażenia	5,51 \pm 3,64 4,09 0,58/13,16	7,57 \pm 3,23 5,98 4,08/13,46	ns Wilcoxon Signed Rank Test
Grupa F pacjentki z cechami zakażenia	4,93 \pm 4,18 2,96 0,68/10,87	7,72 \pm 3,45 8,09 1,83/13,20	<0,05 Wilcoxon Signed Rank Test

Rezultaty podobnej analizy oceniającej przydatność oznaczenia osoczonego stężenia wybranych cytokin (G-CSF, IL-6, IL-10, TNF- α , ICAM-1) w predykcji negatywnego wyniku położniczego opublikował Mercer i wsp. w 2012 roku [60]. Do badania zakwalifikowano 417 kobiet z PPROM pomiędzy 24 a 32 tygodniem ciąży, jednak tylko od 82 pacjentek udało się pobrać wszystkie założone w badaniu próbki (krew żylna w momencie kwalifikacji do badania i po porodzie oraz krew pępowinowa). Porównując grupę pacjentek, u których okres od PPROM do porodu wynosił mniej niż 7 dni z kobietami, które urodziły po tym okresie stwierdzono wyższe stężenie G-CSF oraz IL-6 w surowicy krwi matki w momencie kwalifikacji do badania, co może korespondować z wynikami uzyskanymi w powyższej

analizie w przypadku osocznego stężenia IL-6 w grupach A i B, ale już nie w stosunku do stężenia G-CSF. Zaobserwowano również, że spośród badanych białek tylko matczyne osoczone stężenie TNF- α oraz IL-10 w momencie włączenia do analizy były statystycznie wyższe u pacjentek, u których później rozpoznano klinicznie jawne zakażenie wewnątrzrodniowe w porównaniu do kobiet bez cech zakażenia. Niestety takiej zależności dla tych dwóch cytokin oznaczanych w chwili włączenia do badania nie stwierdzono w aspekcie wczesnej posocznicy noworodkowej czy wrodzonego zapalenia płuc u noworodka. W tym samym badaniu matczyne osoczone stężenie badanych cytokin po porodzie w grupie kobiet z klinicznie jawną infekcją wewnątrzrodniową w porównaniu do pacjentek bez cech zakażenia było zdecydowanie wyższe we wszystkich przypadkach, tj. G-CSF, IL-6, IL-10, TNF- α oraz ICAM-1, ale już tylko TNF- α korelował dodatkowo z posocznicą noworodkową. W prezentowanej rozprawie taką zależność zauważono jedynie w stosunku do TNF- α mierzonego w przeciągu 12 godzin od porodu. W pracy Mercer B. i wsp. zbadano również przydatność oznaczanych cytokin w predykcji negatywnego wyniku położniczego noworodka przy użyciu analizy pola pod krzywą ROC. Wartość AUC >70% uzyskano jedynie dla testu oceniającego stężenie G-CSF w surowicy krwi pępowinowej w przewidywaniu wczesnej posocznicy noworodkowej [60].

W pracy z 2007 Murtha i wsp. analizowano związek pomiędzy matczym osoczym stężeniem IL-6 oraz G-CSF a histologicznie rozpoznany zapaleniem błon płodowych o etiologii grzybiczej [71]. Do badania zakwalifikowano 107 ciężarnych z rozpoznany przedwczesnym pęknięciem błon płodowych przed ukończeniem 37 tygodnia ciąży, od których pobierano codziennie próbkę krwi żyłnej celem oznaczenia badanych cytokin. U ponad połowy spośród uczestniczek badania rozpoznano zapalenie błon płodowych, co dodatkowo korelowało ze zdecydowanie wcześniejszym zakończeniem ciąży (28,5 vs. 31,5 tygodnia ciąży). Zauważono również, że wśród kobiet z później rozpoznany zapaleniem błon płodowych stężenie IL-6 oraz G-CSF w surowicy krwi było istotnie podniesione w okresie 24–48 godzin przed porodem (IL-6, 7.5 vs. 2.8 pg/ml, $p < .001$; G-CSF, 121.7 vs. 56.9 pg/ml, $p < .05$). Dlatego Murtha i wsp. uważają, że zarówno IL-6, jak i G-CSF mogą być potencjalnymi markerami zapalenia błon płodowych o etiologii grzybiczej u kobiet doświadczających przedwczesnego pęknięcia błon płodowych przed terminem oraz porodu przedwczesnego [71].

W piśmiennictwie najczęściej badaną cytokiną w aspekcie przedwczesnego pęknięcia błon płodowych oraz infekcji wewnątrzrodniowej pozostaje bezsprzecznie IL-6. W prezentowanej pracy średnie stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od stwierdzenia odpływania płynu owodniowego w obu parach grupach (C i D oraz E i F) nie przekraczało wartości 5,7 pg/ml. Analogiczne rezultaty uzyskali Gulati i wsp., którzy u pacjentek z wykluczonym klinicznie jawnym zakażeniem wewnątrzrodniowym podczas kwalifikacji do badania uzyskali wartość stężenia IL-6 na poziomie 3,98 pg/ml [33]. W obu analizach stwierdzono znaczący wzrost stężenia IL-6 w surowicy krwi pacjentek porównując wartości w chwili włączenia do badania oraz wartości otrzymane po 48 godzinach od pierwszego pobrania lub w przypadku powyższej rozprawy, w okresie 12 godzin od porodu. Gulati i wsp. przyjęli wartość stężenia IL-6 ≥ 8 pg/ml za proponowany punkt odcięcia dla testu oceniającego wartość predykcyjną osoczonego, matczyne stężenia IL-6 (po 48 godzinach od pierwszego pobrania) dla zakażenia wewnątrzrodniowego potwierdzonego badaniem histopatologicznym. W tej samej publikacji zaobserwowano, że przebiegające z posoczną noworodkową wrodzone zakażenie noworodka korelowało z osoczym stężeniem IL-6 we krwi matki ≥ 8 pg/ml. W omawianej rozprawie doktorskiej kobiety, które urodziły noworodka z cechami zakażenia wrodzonego miały średnie stężenie IL-6 w surowicy krwi również powyżej tej wartości (8,10 pg/ml). Jednakże w obu grupach (noworodki bez cech zakażenia oraz noworodki z cechami zakażenia), wartości stężeń IL-6 po porodzie miały podobną wartość (7,51 vs. 8,10 pg/ml) i nie różniły się między sobą w znaczący sposób, co w konsekwencji skutkowało uzyskaniem bardzo niskiej wartości predykcyjnej stężenia IL-6 w surowicy krwi matki dla wrodzonego zakażenia noworodka. Kontrastowało to z rezultatem uzyskanym przez Gulati i wsp., gdzie osoczone stężenie IL-6 we krwi matki ≥ 8 pg/ml (drugie pobranie – po 48 godzinach od pierwszego oznaczenia) odznaczało się wysoką wartością predykcyjną dla wrodzonego zakażenia noworodka przebiegającego z posoczną noworodkową (przy czułości i specyficzności odpowiednio wynoszącej 82,6 oraz 86,3%) [33].

Ciekawe wyniki zaprezentował Shobokshia i wsp. w pracy z 2002, w której analizowano znaczenie m.in. IL-6 oraz TNF- α w patogenezie przedwczesnego pęknięcia błon płodowych przed 37 tygodniem ciąży [89]. Od 30 uczestniczek badania z rozpoznaniem PPRM pobierano płyn owodniowy wykonując diagnostyczną amniocentezę oraz pobierano krew żylną. W uzyskanym płynie owodniowym oraz w surowicy krwi oznaczano stężenie omawianych cytokin prozapalnych, a ponadto część pobranego płynu owodniowego badano

na obecność patogenów najczęściej wywołujących infekcję wewnątrzodniową. Grupę kontrolną stanowiło 20 pacjentek, które doświadczały porodu przedwczesnego niepowikłanego przedwczesnym pęknięciem błon płodowych. Dodatni wynik posiewu płynu owodniowego stwierdzono w 24 z 30 przypadków PPRM. Ponad 90% (93%) pacjentek z dodatnim wynikiem posiewu płynu owodniowego miało istotnie podwyższone stężenie badanych cytokin w płynie owodniowym, co wskazuje na toczącą się infekcję wewnątrzodniową. Jednak tylko 52% spośród tych kobiet miało również znacząco podwyższone stężenie analizowanych cytokin w surowicy krwi obwodowej, a zatem doszło u nich do uogólnienia procesu zapalnego [89]. Wyniki tej pracy mogą korespondować z rezultatami uzyskanymi w powyższej rozprawie doktorskiej i pośrednio tłumaczyć fakt wyższej liczby noworodków z cechami zakażenia wrodzonego niż zakażonych kobiet (17 vs. 11).

W pracy Zhang i wsp. badano zmiany stężenia wybranych cytokin prozapalnych (IL-8, iL-6 oraz TNF-alfa) w płynie owodniowym oraz w surowicy krwi obwodowej w grupie 46 ciężarnych doświadczających przedwczesnego pęknięcia błon płodowych [110]. Grupę kontrolną stanowiło 46 pacjentek w analogicznym wieku ciążowym, u których nie stwierdzono przedwczesnego pęknięcia błon płodowych. Podobnie jak w omawianej pracy doktorskiej, z analizy wykluczono wszystkie kobiety, u których stwierdzono w trakcie kwalifikacji do badania, cechy rozpoczynającego się zakażenia wewnątrzodniowego lub objawy innych chorób infekcyjnych. Do grupy pacjentek z zakażeniem wewnątrzodniowym kwalifikowano pacjentki na podstawie badania histopatologicznego popłodu. W grupie pacjentek włączonych do badania stwierdzono 12 przypadków chorioamnionitits, spośród których tylko dwie pacjentki prezentowały objawy kliniczne infekcji wewnątrzodniowej. Wartość osoczowego stężenia TNF-alfa w momencie kwalifikacji do badania w pracy Zhang i wsp. nie różniła się od tej uzyskanej w grupie kontrolnej. Ponadto stężenie tej cytokiny wzrastało wraz z długością trwania czasu od PROM do porodu uzyskując maksymalną wartość w 24-tej godzinie po porodzie. Powyższe rezultaty korespondują z uzyskanymi w omawianej pracy. Zgodna jest również obserwacja, iż u pacjentek z rozpoznaną infekcją wewnątrzodniową stwierdzano statystycznie wyższe wartości stężenia TNF-alfa w surowicy krwi obwodowej w porównaniu do tych uzyskanych u kobiet niezakażonych. W przypadku osoczowego stężenia IL-6 również zauważono jego wzrost wraz z przedłużeniem okresu od pęknięcia błon płodowych do porodu, co także znalazło potwierdzenie w wynikach otrzymanych w prezentowanym badaniu [110].

Interesujące rezultaty uzyskał Shimoya i wsp., który badał osoczowe stężenie wybranych cytokin prozapalnych (IL-1-alfa, IL-1-beta, TNF-alfa, IL-6, oraz IL-8) oraz możliwość ich oznaczania jako wczesnych markerów rozpoczynającego się zakażenia wewnątrzrodniowego [88]. Do badania włączono 103 rodzące kobiety, które następnie obserwowano w kierunku zakażenia wewnątrzrodniowego, a po porodzie wykonywano u nich badanie histopatologiczne popłodu. Stwierdzono 22 przypadki chorioamnionitis, a wśród nich jeden przypadek jawnej klinicznie infekcji wewnątrzrodniowej. Badane pacjentki podzielono na podstawie wyniku badania histopatologicznego na dwie grupy (22 – z chorioamnionitis vs. 81 – bez chorioamnionitis), pomiędzy którymi porównywano uzyskane wartości stężeń wybranych cytokin prozapalnych. Istotnie statystycznie różnice pomiędzy grupami zauważono tylko w przypadku osoczowego stężenia IL-1-beta oraz IL-8 uzyskanego w chwili porodu. W tej samej pracy analizowano także wartość predykcyjną IL-1-alfa, IL-1-beta, IL-6, IL-8 oraz TNF-alfa w stosunku do możliwości wystąpienia chorioamnionitis. Najwyższą wartość predykcyjną wykazano dla testu badającego osoczowe stężenie IL-8 w trakcie porodu przy czułości 64% i specyficzności 81%, natomiast dla pozostałych cytokin uzyskane wartości oscylowały wokół wyników odpowiadających przypadkowemu rozłożeniu cechy w grupach [88].

5.3. sL-SELEKTYNA W SUROWICY KRWI NOWORODKA JAKO MARKER WRODZONEGO ZAKAŻENIA NOWORODKA

W sytuacji, gdy zarówno przedwczesne pęknięcie błon płodowych, jak i poród przedwczesny, są istotnymi czynnikami ryzyka wrodzonego zakażenia noworodka, wczesne, tzn. jeszcze przed rozwinięciem się objawów, wytypowanie dzieci, które rozwiną cechy zakażenia wydaje się być kluczowe w przypadku PPRM. W powyższej rozprawie doktorskiej oznaczono obok standardowych markerów infekcji noworodkowej (stężenie leukocytów oraz CRP) stężenie sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka. Niestety nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w średnim stężeniu tego białka pomiędzy noworodkami z cechami wrodzonego zakażenia oraz noworodkami zdrowymi ($871,41 \pm 205,64$ ng/ml vs. $872,22 \pm 164,58$ ng/ml).

Odmienne rezultaty uzyskał Kourtis i wsp., który badał możliwość wykorzystania oznaczenia stężenia rozpuszczalnej formy L-Selektyny u noworodków urodzonych przed ukończonym 37 tygodniem ciąży jako wczesnego markera toczącego zakażenia [46]. Do analizy zakwalifikowano 46 noworodków urodzonych pomiędzy 23+0 a 36+6 tygodniem

cięży oraz 43 noworodki urodzone o czasie, od których pobierano obwodową krew żylną celem oceny stężenia sL-Selektyny w przeciągu pierwszych 48 godzin życia. Stwierdzono, że osoczowe stężenie sL-Selektyny u noworodków, w pierwszych dwóch dobach życia niezależnie od wieku ciążowego w chwili porodu, było niższe w porównaniu do stężenia oznaczanego powyżej tego okresu (do 6 miesięcy). Nie zaobserwowano różnic w stężeniu tej cytokiny pomiędzy noworodkami urodzonymi przedwcześnie i o czasie (1172 ng/ml vs. 1151 ng/ml). Podobnie sposób ukończenia porodu (poród siłami natury – 1233 ng/ml vs. cięcie cesarskie – 1151 ng/ml), podanie jednorazowego kursu steroidoterapii czy stan przedrzucawkowy także nie wpływał na zmianę jej stężenia. Jednak stwierdzenie jawnej klinicznie infekcji wewnątrzrodniowej (1377 ng/ml vs. 1072 ng/ml) lub objawy posocznicy noworodkowej (1331 ng/ml vs. 1149 ng/ml) powodowały istotne zwiększenie stężenia sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka [46]. Powyższe wyniki odbiegają prawdopodobnie od uzyskanych w omawianej rozprawie doktorskiej ze względu na fakt zakwalifikowania do grupy noworodków z cechami wrodzonego zakażenia (grupa D), nie tylko dzieci z wczesną posocnicą noworodkową, ale również przypadki, bakteriemii, zapalenia płuc, spojówek, kikutu pępowiny czy ucha środkowego.

5.4. OZNACZENIE STĘŻENIA CRP I LEUKOCYTÓW W SUROWICY KRWI MATKI W PROGNOZOWANIU WYSTĄPIENIA ZAKAŻENIA U NOWORODKA I MATKI

W omawianym opracowaniu stężenie leukocytów oraz CRP wzrastało znacząco niezależnie od długości trwania pęknięcia błon płodowych, wystąpienia wrodzonego zakażenia noworodka czy zakażenia ciężarnej i/lub położnicy, porównując wartości uzyskane w momencie kwalifikacji do badania (≤ 6 godzin od PPRM) z wynikami otrzymanymi w okresie pierwszych 12 godzin od porodu. W żadnej z trzech par grup (A/B, C/D i E/F) nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w pierwszym oznaczeniu (≤ 6 godzin od PPRM) w przypadku stężenia leukocytów oraz CRP w surowicy krwi żylny ciężarnej, co skutkowało niską wartością predykcyjną oznaczenia tych parametrów laboratoryjnych w przewidywaniu, możliwości wystąpienia wrodzonego zakażenia noworodka czy zakażenia ciężarnej i/lub położnicy. Podobnie nie zauważono różnic w stężeniu leukocytów w drugim oznaczeniu, w żadnej z trzech par grup. Natomiast w grupie pacjentek, które urodziły noworodka z cechami wrodzonego zakażenia oraz w grupie pacjentek z cechami zakażenia, stężenie CRP było zdecydowanie wyższe, dając satysfakcjonujące wyniki analizy krzywej ROC dla testu

oceniającego możliwość rozwoju wrodzonego zakażenia noworodka oraz bardzo dobre dla testu oceniającego możliwość wystąpienia zakażenia ciężarnej i/lub położnicy. Zestawienie wyników dotyczących stężenia leukocytów oraz CRP w czasie ≤ 6 godzin od PPRM oraz ≤ 12 godzin od porodu w poszczególnych grupach przedstawiono w tabeli 36.

Tabela 36. Stężenie leukocytów oraz CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM oraz ≤ 12 godzin od porodu w badanych grupach.

	Stężenie leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (G/l) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	Stężenie leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (G/l) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	<i>p</i>	Stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PPRM (mg/l) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	Stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu (mg/l) średnia (\pm SD) mediana minimum/maksimum	<i>p</i>
Grupa A poród $\leq 48h$	10,50 \pm 2,71 10,11 6,00/15,00	16,50 \pm 6,51 15,12 8/35	<0,001 t-Test	4,31 \pm 4,4 3,01 0,91/10,00	28,52 \pm 20,6 27,11 3,33/95,3	<0,001 paired t-Test
Grupa B poród $>48h$	11,00 \pm 3,20 11,12 2,00/15,00	17,60 \pm 5,70 16,11 7/27	<0,001 t-Test	6,81 \pm 6,3 4,02 1,11/10,00	64,53 \pm 66,2 48,23 1,51/223,4	<0,001 paired t-Test
Grupa C noworodki bez cech wrodzonego zakażenia	11,19 \pm 2,85 12,00 6,00/15,00	16,56 \pm 5,57 15,31 6,60/28,87	<0,001 t-Test	5,66 \pm 5,66 4,01 0,87/10,00	29,41 \pm 26,0 23,81 1,61/118,12	<0,001 Wilcoxon on Signed Rank Test
Grupa D noworodki z cechami wrodzonego zakażenia	9,55 \pm 2,92 10,00 4,00/10,00	17,92 \pm 7,25 15,93 9,20/34,76	<0,001 t-Test	5,25 \pm 5,33 3,39 1,43/10,00	83,52 \pm 72,3 68,92 12,51/223,42	<0,001 paired t-Test
Grupa E pacjentki bez cech zakażenia	10,99 \pm 2,18 11,00 6,00/15,00	17,12 \pm 6,32 15,62 6,60/34,76	<0,001 Wilcoxon on Signed Rank Test	4,71 \pm 4,4 3,21 0,91/10,00	25,13 \pm 17,6 23,83 1,61/62,4	<0,001 Wilcoxon on Signed Rank Test
Grupa F pacjentki z cechami zakażenia	9,48 \pm 3,27 10,00 2,00/14,00	16,56 \pm 5,26 15,40 9,20/24,45	<0,001 Wilcoxon on Signed Rank Test	8,92 \pm 8,2 4,22 1,41/10,00	130,41 \pm 56,9 112,61 32,18/223,4	<0,001 Wilcoxon on Signed Rank Test

W pracy De Meeus i wsp. oceniano zmiany stężenia CRP w stosunku do porodu w prawidłowo przebiegającej ciąży oraz w trakcie niepowikłanego porodu [22]. Stwierdzono jednoznacznie, że sam fakt odbycia porodu jest czynnikiem powodującym wzrost stężenia tego białka. Badanie przeprowadzono na grupie 85 ciężarnych w pojedynczej prawidłowo

przebiegającej ciąży ukończonej porodem fizjologicznym, u których mierzono badany parametr w chwili przyjęcia do oddziału porodowego oraz w trzeciej dobie połogu. Grupę kontrolną stanowiły zdrowe, nieciążarne kobiety. Stężenie CRP w surowicy krwi żyłnej w chwili porodu w grupie badanej wynosiło średnio $4,10 \pm 2,79$ mg/dl, a w trzeciej dobie połogu $24,07 \pm 18,28$ mg/dl i było zdecydowanie wyższe od tego uzyskanego w grupie kobiet nieciążarnych. Autorzy pracy podkreślają fakt, że interpretacja wyników dotyczących stężenia CRP u kobiet ciężarnych oraz w okresie połogu odbiega od przyjętych dla ogólnej populacji norm. Powyższe rezultaty pokrywają się z wynikami uzyskanymi w omawianej pracy, gdzie po porodzie także notowano wzrost stężenia CRP, niezależnie od faktu wystąpienia zakażenia u matki lub noworodka [22].

Uzyskane rezultaty dotyczące oznaczenia osocznego stężenia CRP oraz leukocytów w momencie stwierdzenia PPRM pokrywają się z wynikami prezentowanymi w literaturze. Prace oceniające przydatność badania stężenia osocznego CRP do 24 godzin od PPRM sugerują niską przydatność w przewidywaniu zakażenia zarówno u matki, jak i u noworodka. W pracy Torbé i wsp. badano wartość predykcyjną oceny stężenia CRP w surowicy krwi matki w stosunku do wrodzonej posocznicy noworodkowej u 50 kobiet z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych pomiędzy 24 a 37 tygodniem pojedynczej ciąży [99]. Pacjentki włączone do badania podzielono następnie retrospektywnie na dwie grupy w zależności od wystąpienia wrodzonej posocznicy noworodkowej (14 vs. 36). U wszystkich uczestniczek analizy mierzono stężenie CRP w surowicy krwi matki w chwili stwierdzenia PPRM. Czułość i specyficzność badanego parametru oceniono na 47 i 63% przy proponowanym punkcie odcięcia 10 mg/l oraz na 47 i 76% przy 15 mg/l [99].

Podobne do prezentowanych w omawianej pracy wyniki dotyczące przydatności oceny stężenia CRP w surowicy krwi ciężarnej w przewidywaniu zakażenia wewnątrzrodniowego u matki uzyskali także Zou i wsp., którzy analizowali stężenie tego białka tuż przed lub w trakcie porodu u 75 kobiet w pojedynczej ciąży [111]. Do badania kwalifikowano pacjentki po wykluczeniu chorób infekcyjnych oraz ciężkich chorób ogólnoustrojowych. Stężenie białka C-reaktywnego było zdecydowanie wyższe w przypadku PPRM oraz PROM aniżeli w grupie ciężarnych bez tego powikłania. Stwierdzono także, że w przypadku klinicznie jawnej infekcji wewnątrzrodniowej wartość stężenia tego białka była statystycznie wyższa niż u pacjentek z PPRM lub PROM bez objawów IAI. Oznaczenie stężenia CRP w badaniu Zou i wsp. odznaczało się wysoką czułością (81%),

specyficznością (73,5%) przy dodatniej wartości predykcyjnej wynoszącej 65,4% oraz negatywnej wartości predykcyjnej na poziomie 86,2% w przewidywaniu infekcji wewnątrzowodniowej u matki [111].

W pracy Gojnic i wsp. również analizowano znaczenie oceny stężenia CRP w surowicy krwi matki w diagnozowaniu infekcji wewnątrzowodniowej. Grupę badaną stanowiło 60 kobiet z IAI, u których oceniano uprzednio stężenie CRP, leukocytów, temperaturę ogólną ciała oraz czynność serca u matki i płodu. Stwierdzono, że w 93,33% przypadków IAI stężenie CRP było podwyższone i odznaczało się najwyższą wartością predykcyjną w stosunku do infekcji wewnątrzowodniowej niż pozostałe parametry [30].

W pracy van der Heyden i wsp. z 2010 roku analizowano retrospektywnie przydatność oznaczenia stężenia CRP oraz leukocytów w surowicy krwi matki w przewidywaniu zakażenia wrodzonego noworodka. Badanie przeprowadzono na grupie 299 kobiet z PROM, u których mierzono co 2 dni stężenie ww. parametrów laboratoryjnych aż do porodu. Wrodzone zakażenie noworodka stwierdzono w 47 (16%) przypadkach. Pole pod krzywą ROC dla testu oceniającego stężenie CRP oraz leukocytów w przewidywaniu wrodzonego zakażenia noworodka miało odpowiednio wartość 0,61 oraz 0,62 [101].

5.5. PODSUMOWANIE

Przedwczesne pęknięcie błon płodowych przed terminem i tym samym poród przedwczesny bezsprzecznie wiążą się z powikłaniami dotyczącymi zakażenia, zarówno matki jak i dziecka oraz wszystkimi konsekwencjami wcześniactwa, które łącznie wpływają na ostateczny ich wynik położniczy. Dostępność markerów umożliwiająca prawidłowe identyfikowanie pacjentek narażonych na wystąpienie gorszego wyniku położniczego matki i/lub noworodka byłaby nieoceniona w doborze najbardziej optymalnego sposobu postępowania w przypadku PPROM pomiędzy 30+0 a 36+6 tygodniem ciąży. Pacjentki te, jako bardziej narażone na niepowodzenie postępowania zachowawczego mogłyby być kwalifikowane do indukcji porodu przed rozwinięciem się zakażenia wewnątrzowodniowego i jeszcze zanim dojdzie do zakażenia płodu. Najbardziej przydatne markery negatywnego wyniku położniczego powinny także umożliwiać różnicowanie pacjentek, u których zostanie on stwierdzony najlepiej w momencie zdiagnozowania odpływania płynu owodniowego, a ponadto powinny być oznaczane w jak najmniej inwazyjny dla pacjentki sposób. Dlatego w powyższej pracy skupiono się przede wszystkim na badaniu zastosowania oznaczenia stężenia

osoczowych cytokin u matki bez wykładników rozwijającego się zakażenia w okresie 6 godzin od stwierdzenia PPRM oraz w pierwszych 12 godzinach od porodu, które można ocenić podczas rutynowo wykonywanych testów laboratoryjnych. Jednak z uwagi na złożoność etiopatogenezy IAI oraz procesu odpowiedzi organizmu na obecność patogenów, raczej trudno przypuszczać, iż w przyszłości uda się wytypować pojedyncze białko odznaczające się wystarczająco wysoką zdolnością przewidywania (np. już na etapie stwierdzenia pęknięcia błon płodowych) niekorzystnego wyniku położniczego, zarówno matki, jak i noworodka. Pozostaje więc nadal konieczność dalszego poszukiwania, wiarygodnych narzędzi diagnostycznych subklinicznego IAI, a tym samym stworzenia możliwości przygotowania odpowiednich standardów postępowania w przypadku PPRM pomiędzy 30+0 a 36+6 tygodniem ciąży.

6. WNIOSKI

1. Ciężarne z PPRM pomiędzy 30+0 a 36+6 tygodniem ciąży, u których poród odbył się po upływie 48 godzin od pęknięcia błon płodowych wykazywały większe ryzyko wystąpienia IAI i/lub zakażenia w okresie połogu.
2. Noworodki urodzone po upływie 48 godzin od stwierdzenia PPRM były bardziej narażone na przedłużoną hospitalizację w OION przy takim samym ryzyku wystąpienia wrodzonego zakażenia noworodkowego.
3. Niższy wiek ciążowy w momencie porodu oraz niższa masa urodzeniowa noworodka są związane ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia wrodzonego zakażenia noworodka.
4. Oznaczenie stężenia TNF- α w surowicy krwi matki w okresie ≤ 12 godzin od porodu posiada wartość predykcyjną w stosunku do wystąpienia wrodzonego zakażenia noworodka oraz zakażenia matki.
5. W przeprowadzonym badaniu proponowany punkt odcięcia dla stężenia TNF- α w przypadku zakażenia noworodka wyniósł 1,619 pg/ml (czułość-70,6%, specyficzność-71,8%), natomiast dla zakażenia matki 3,704 pg/ml (czułość-18,2%, specyficzność-95,6%).
6. Oznaczenie stężenia CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu posiada wysoką wartość predykcyjną w prognozowaniu wrodzonego zakażenia noworodka oraz zakażenia ciężarnej i/lub położnicy.
7. Ocena stężenia G-CSF, TNF- α , IL-6, leukocytów i CRP w surowicy krwi matki w okresie ≤ 6 godzin od PPRM lub G-CSF, IL-6 i leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu, a także sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka do 12 godzin od porodu nie posiada wartości predykcyjnej w stosunku do zakażenia noworodka lub zakażenia ciężarnej i/lub położnicy.

7. PIŚMIENNICTWO

1. Abdollahi A, Shoar S. Diagnostic value of simultaneous measurement of procalcitonin, interleukin-6 and hs-CRP in prediction of early-onset neonatal sepsis. *Mediterr J Hematol Infa. Dis.* 2012, 4(1).
2. Abou El, Senoun G, Dowswell T, [et al.]. Planned home versus hospital care for preterm prelabour rupture of the membranes (PPROM) prior to 37 weeks' gestation (Review). *The Cochrane Library.* 2010, Issue 4.
3. Abrahams V, Mor G. Toll-like Receptors and their Role in the Trophoblast. *Placenta.* 2005, 26, 540-547.
4. ACOG Committee on Practice Bulletins-Obstetrics. ACOG Practice Bulletin No. 80: premature rupture of membranes. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. *Obstet Gynecol.* 2007, 109: 1007-1019.
5. Allen SR. Epidemiology of Premature Rupture of the Fetal Membranes. *Clin Obstet Gynecol.* 1991, 34(4): 685-93.
6. Amin AF, Mohammed MS, Sayed GH, [et al.]. Prophylactic transcervical amnioinfusion in laboring women with oligohydramnios. *Int J Gynaecol Obstet.* 2003, 81: 183-189.
7. Asrat T, Garite TJ. Management of preterm premature rupture of membranes. *Clin Obstet Gynecol.* 1991, 34(4): 730-41.
8. Banks WA, Kastin AJ, Gutierrez EG. Penetration of interleukin-6 across the murine blood-brain barrier. *Neurosci. Lett.* 1994, 179 (1-2): 53-6.
9. Belady PH, Farkouh LJ, Gibbs RS. Intra-amniotic infection and premature rupture of the membranes. *Clin Perinatol.* 1997, 24(1):43-57.
10. Bengtson JM, Van Marter L, Barss VA, [et al.]. Pregnancy outcome after premature rupture of membranes at or before 26 weeks' gestation. *Obstet Gynecol.* 1989, 73:921-927.

11. Bręborowicz GH, Drews K, Połczyńska-Kaniak E. Ciąża Wysokiego Ryzyka. Przedwczesne pęknięcie błon płodowych. OWN Poznań, 2010, Wydanie III, 177-192.
12. Brown CL, Ludwiczak MH, Blanco JD, [et al.]. Cervical dilation: accuracy of visual and digital examinations. *Obstet Gynecol.* 1993, 81:215–6.
13. Buchanan SL, Crowther CA, Levett KM, [et al.]. Planned early birth versus expectant management for women with preterm prelabour rupture of membranes prior to 37 weeks' gestation for improving pregnancy outcome. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010, 17;(3):CD004735.
14. Carlan SJ, O'Brien WF, Parsons MT, [et al.]. Preterm premature rupture of membranes: a randomized study of home versus hospital management. *Obstet Gynecol.* 1993;81:61–4.
15. Carroll SG, Papaioannou S, Ntumazah IL, [et al.]. Lower genital tract swabs in the prediction of intrauterine infection in preterm prelabour rupture of the membranes. *Br J Obstet Gynaecol.* 1996;103:54–9.
16. Caughey AB, Robinson JN, Norwitz ER. Contemporary Diagnosis and Management of Preterm Premature Rupture of Membranes. *Rev Obstet Gynecol.* 2008 1(1): 11–22.
17. Combs CA, McCune M, Clark R, [et al.]. Aggressive tocolysis does not prolong pregnancy or reduce neonatal morbidity after preterm premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2004, 190: 1723–8.
18. Cox SM, Leveno KJ. Intentional delivery versus expectant management with preterm ruptured membranes at 30–34 weeks' gestation. *Obstet Gynecol.* 1995;86:875–9.
19. Crowley P. Prophylactic corticosteroids for preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000; 2.
20. Dale PO, Tanbo T, Bendvold E, [et al.]. Duration of the latency period in preterm premature rupture of the membranes. Maternal and neonatal consequences of expectant management. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1989, 30: 257-262.
21. Dare MR, Middleton P, Crowther CA, [et al.]. Planned early birth versus expectant management (waiting) for prelabour rupture of membranes at term (37 weeks or more) (Review). *The Cochrane Database Syst Rev.* 2009; 1.
22. De Meeus JB, Pourrat O, Gombert J, [et al.]. C-reactive protein levels at the onset of labour and at day 3 post-partum in normal pregnancy. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 1998, 25(1-2):9-11.
23. Dewan H, Morris JM. A systematic review of pregnancy outcome following preterm premature rupture of membranes at a previable gestational age. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2004, 1: 389–94.

24. Drews K, Pieńkowski W, Bręborowicz GH, Paszkowski T. Infekcja wstępująca i wertykalna a poród przedwczesny. *Poród Przedwczesny*. OWN Poznań 2006; 79-94.
25. Duff P. Premature rupture of the membranes in term patients. *Semin Perinatol*. 1996, 20: 401-408.
26. El Khwad M, Stetzer B, Moore RM, [et al.]. Term human fetal membranes have a weak zone overlying the lower uterine pole and cervix before onset of labor. *Biol Reprod* 2005, 72:720–6.
27. Faksh A, Wax JR, Lucas FL, [et al.]. Preterm premature rupture of membranes \geq 32 weeks' gestation: impact of revised practice guidelines. *Am J Obstet Gynecol*. 2011, 205(4): 340.e1-5.
28. Ferguson-Smith AC, Chen YF, Newman MS, [et al.]. Regional localization of the interferon-beta 2/B-cell stimulatory factor 2/hepatocyte stimulating factor gene to human chromosome 7p15-p21. *Genomics*. 1988, 2(3): 203-8.
29. Garite TJ, Keegan KA, Freeman RK, [et al.]. A randomized trial of ritodrine tocolysis versus expectant management in patients with premature rupture of membranes at 25 to 30 weeks of gestation. *Am J Obstet Gynecol*. 1987, 157: 388–93.
30. Gojnic M, Fazlagic A, Pervulov M, [et al.]. The significance of C-reactive protein in the diagnosis of fetal tachycardia and therapy of chorioamnionitis. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2005, 32(2): 114-6.
31. Gold RB, Goyert GL, Schwartz DB, [et al.]. Conservative management of second-trimester post- amniocentesis fluid leakage. *Obstet Gynecol*. 1989, 74: 745–7.
32. Gonçalves LF, Chaiworapongsa T, Romero R. Intrauterine infection and prematurity. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*. 2002, 8(1): 3-13.
33. Gulati S, Bhatnagar S, Raghunandan C. [et al.] Interleukin-6 as a Predictor of Subclinical Chorioamnionitis in Preterm Premature Rupture of Membranes. *Am J Reprod Immunol*. 2012; 67:235-240.
34. Hadley CB, Main DM, Gabbe SG. Risk factors for preterm premature rupture of the fetal membranes. *Am J Perinatol*. 1990, 7:374–9.
35. Hannah ME, Ohlsson A, Farine D, [et al.]. Induction of labor compared with expectant management for prelabor rupture of the membranes at term. *TERMPROM Study Group*. *N Engl J Med*. 1996;334:1005-1010.
36. Harding JE, Pang J, Knight DB, [et al.]. Do antenatal corticosteroids help in the setting of preterm rupture of membranes ? *Am J Obstet Gynecol*. 2001, 184: 131–9.

37. Harger JH, Hsing AW, Tuomala RE, [et al.]. Risk factors for preterm premature rupture of fetal membranes: a multicenter case-control study. *Am J Obstet Gynecol.* 1990, 163: 130–7.
38. Heinrich PC, Behrmann, I, Müller-Newen G, [et al.]. Interleukin-6 type cytokine signaling through the gp130 (Jak/STAT pathway). *Biochem. J.* 1998, 334 (Pt 2): 297–314.
39. Hirano, T. Interleukin 6 and its receptor: ten years later. *Int. Rev. Immunol.* 1998, 16, 249–284.
40. How HY, Cook CR, Cook VD, [et al.]. Preterm premature rupture of membranes: aggressive tocolysis versus expectant management. *J Matern Fetal Med.* 1998, 7:8–12.
41. Ismail MA, Zinaman MJ, Lowensohn RI, [et al.]. The significance of C-reactive protein levels in women with premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1985, 151: 541–4.
42. James JL, Carter AM, Chamley LW. Human placentation from nidation to 5 weeks of gestation. Part I: What do we know about formative placental development following implantation?. *Placenta.* 2013, 33 (5): 327–34.
43. Kenyon S, Boulvain M, Neilson JP. Antibiotics for preterm rupture of membranes. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010, 8.
44. Kim YM, Romero R, Chaiworapongsa T, [et al.]. Toll-like receptor-2 and -4 in the chorioamniotic membranes in spontaneous labor at term and in preterm parturition that are associated with chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynecol.* 2004,191(4): 1346-55.
45. Kohn LA, Hao QL, Sasidharan R, [et al.]. Lymphoid priming in human bone marrow begins before expression of CD10 with upregulation of L-selectin. *Nat. Immunol.* 2013, 13 (10): 963–71.
46. Kourtis AP, Lee FK, Stoll BJ. Soluble L-selectin, a marker of immune activation, in neonatal infection. *Clin Immunol.* 2003, 109(2):224-8.
47. Kriegler M, Perez C, DeFay, [et al.]. A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: ramifications for the complex physiology of TNF. *Cell.* 1988; 53 (1): 45–53.
48. Kurki T, Teramo K, Ylikorkala O, [et al.]. C-reactive protein in preterm premature rupture of the membranes. *Arch Gynecol Obstet.* 1990;247:31–7.
49. Lavery JP, Miller CE, Knight RD. The effect of labor on the rheologic response of chorioamniotic membranes. *Obstet Gynecol.* 1982, 60:87–92.

50. Lee SE, Park JS, Norwitz ER, [et al.]. Measurement of placental alpha-microglobulin-1 in cervicovaginal discharge to diagnose rupture of membranes. *Obstet Gynecol.* 2007, 109(3): 634-40.
51. Lee T, Carpenter M, Heber WW, [et al.]. Preterm premature rupture of membranes: risks of recurrent complications in the next pregnancy among a population based sample of gravid women. *Am J Obstet Gynecol.* 2003, 188: 209–13.
52. Lee T, Carpenter M. Preterm premature rupture of membranes: risks of recurrent complications in the next pregnancy among a population-based sample of gravid women. *Am J Obstet Gynecol.* 2003, 188(1): 209-13.
53. Lewis DF, Major CA, Towers CV, [et al.]. Effects of digital vaginal examinations on latency period in preterm premature rupture of membranes. *Obstet Gynecol.* 1992, 80: 630–4.
54. Łukaszewski T, Barlik M, Seremak-Mrozikiewicz A, [et al.]. Polymorphism in the genes of Toll-like receptors type 2 and type 4 (TLR-2 and TLR-4) and the risk of premature rupture of the membranes – preliminary study. *Ginekol Pol.* 2009, 80(12): 914-919.
55. Majewska M, Szczepanik M. Rola receptorów Toll-podobnych (TLR) w odporności wrodzonej i nabytej oraz ich funkcja w regulacji odpowiedzi immunologicznej. *Post Hig Med Dośw.* 2006, 60, 52-63.
56. McLaren J, Taylor DJ, Bell SC. Increased incidence of apoptosis in non-labour-affected cytotrophoblast cells in term fetal membranes overlying the cervix. *Hum Reprod.* 1999, 14: 2895–900.
57. Melamed N, Ben-Haroush A, Pardo J, [et al.]. Expectant management of preterm premature rupture of membranes: is it all about gestational age? *Am J Obstet Gynecol.* 2011, 204:48
58. Mercer BM, Arheart KL. Antimicrobial therapy in expectant management of preterm premature rupture of membranes. *Lancet.* 1995, 346: 1271-1279.
59. Mercer BM, Crocker LG, Boe NM, [et al.]. Induction versus expectant management in premature rupture of the membranes with mature amniotic fluid at 32 to 36 weeks: a randomized trial. *Am J Obstet Gynecol.* 1993, 169: 775–82.
60. Mercer BM, Crouse DT, Goldenberg RL [et al.]. The antibiotic treatment of PPRM study: systemic maternal and fetal markers and perinatal outcomes. *Am J Obstet Gynecol.* 2012, 206: 145.e1-9.
61. Mercer BM, Goldenberg RL, Meis PJ, [et al.]. The Preterm Prediction Study: prediction of preterm premature rupture of membranes using clinical findings and ancillary testing.

- The National Institute of Child Health and Human Development Maternal–Fetal Medicine Units Network. *Am J Obstet Gynecol.* 2000, 183: 738–45.
62. Mercer BM, Goldenberg RL, Moawad AH, [et al.]. The preterm prediction study: Effect of gestational age and cause of preterm birth on subsequent obstetric outcome. *Am J Obstet Gynecol.* 1999, 181: 1216–21.
 63. Mercer BM. Is there a role for tocolytic therapy during conservative management of preterm premature rupture of the membranes ? *Clin Obstet Gynecol.* 2007, 50: 487-496.
 64. Mercer BM. Management of premature rupture of the membranes before 26 weeks' gestation. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 1992,19: 339-351.
 65. Mercer BM. Preterm premature rupture of the membranes. *Obstet Gynecol.* 2003, 101(1): 178–193.
 66. Mercer BM. Preterm premature ruptures of the membranes. *Obstet Gynecol.* 2003, 101:178–93.
 67. Minkoff H, Grunebaum AN, Schwarz RH, [et al.]. Risk factors for prematurity and premature rupture of membranes: a prospective study of the vaginal flora in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1984, 150: 965–72.
 68. Moore RM, Mansour JM, Redline RW, [et al.]. The physiology of fetal membrane rupture: insight gained from the determination of physical properties. *Placenta.* 2006, 27: 1037–51.
 69. Moretti M, Sibai BM. Maternal and perinatal outcome of expectant management of premature rupture of the membranes in the midtrimester. *Am J Obstet Gynecol.* 1988, 159: 390–6.
 70. Munson LA, Graham A, Koos BJ, [et al.]. Is there a need for digital examination in patients with spontaneous rupture of the membranes? *Am J Obstet Gynecol.* 1985, 153: 562–3.
 71. Murtha AP, Sinclair T, Hauser ER [et al.]. Maternal serum cytokines in preterm premature rupture of membranes. *Obstet Gynecol.* 2007, 109(1): 121-7.
 72. Naeye RL, Peters EC. Causes and consequences of premature rupture of fetal membranes. *Lancet.* 1980, 1:192–4.
 73. Nagata S, Tsuchiya M, Asano S, [et al.]. Molecular cloning and expression of cDNA for human granulocyte colony-stimulating factor". *Nature.* 1986, 319 (6052): 415–8.
 74. Neerhof MG, Cravello C, Haney EI, [et al.]. Timing of labor induction after premature rrupture of membranes between 32 and 36 weeks' gestation. *Am J Obstet Gynecol.* 1999, 180: 3 49–52.

75. Norwitz ER, Robinson JN, Challis JRG. The control of labor. *N Engl J Med.* 1999, 341: 660-666.
76. Old LJ. Tumor necrosis factor (TNF). *Science* 1985; 230 (4726): 630–2.
77. Palladino MA, Bahjat FR, Theodorakis EA, [et al.]. Anti-TNF- α therapies: the next generation. *Nature Reviews Drug Discovery.* 2003, (9): 736–46.
78. Pessach I, Shimoni A, Nagler A. Granulocyte-colony stimulating factor for hematopoietic stem cell donation from healthy female donors during pregnancy and lactation: what do we know?. *Hum Reprod Update.* 2013; 19 (3): 259–67.
79. Petersen AM, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol.* 2005, 98 (4): 1154–1162.
80. Pigott R, Power C. L-Selectin. *The Adhesion Molecule Facts Book.* Academic Press. 1993; 100.
81. Pitzer C, Krüger C, Plaas C, [et al.]. Granulocyte-colony stimulating factor improves outcome in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Brain.* 2008; 131 (Pt 12): 3335–47.
82. RCOG. Preterm Prelabour Rupture of Membranes. Green-top Guideline No. 44, 2010.
83. Robbins SL, Cotran RS, Kumar V, [et al.]. *Robbins Pathologic Basis of Disease.* 1998, Philadelphia: W.B Saunders Company. ISBN 0-7216-7335-X.
84. Romero R, Quintero R, Oyarzun E, [et al.]. Intraamniotic infection and the onset of labor in preterm premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1988, 159: 661–666.
85. Rose-John S. IL-6 Trans-Signaling via the Soluble IL-6 Receptor: Importance for the Pro-Inflammatory Activities of IL-6. *Int J Biol Sci.* 2012; 8(9): 1237–1247.
86. Schneider A, Krüger C, Steigleder T, [et al.]. The hematopoietic factor G-CSF is a neuronal ligand that counteracts programmed cell death and drives neurogenesis. *J. Clin. Invest.* Aug 2005; 115 (8): 2083–98.
87. Schucker JL, Mercer BM. Midtrimester premature rupture of the membranes. *Semin Perinatol.* 1996, 20:389–400.
88. Shimoya K, Matsuzaki N, Taniguchi T [et al.]. Interleukin-8 level in maternal serum as a marker for screening of histological chorioamnionitis at term. *Int J Gynaecol Obstet.* 1997, 57(2): 153-9.
89. Shobokshia 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.

90. Siega-Riz AM, Promislow JH, Savitz DA, [et al.]. T. Vitamin C intake and the risk of preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 2003, 189: 519–25.
91. Słomko Z, Pisarski T. Zakażenie wewnątrzrodniowe i jego następstwa. *Medycyna Perinatalna* 1986, Tom II, PZWL, Warszawa.
92. Sadowski K, Bręborowicz GH, Paszkowski T. Przedwczesne pęknięcia pęcherza płodowego – PROM. *Poród Przedwczesny. OWN Poznań* 2006; 159-176.
93. Souza LM, Boone TC, Gabrilove J, [et al.] Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor: effects on normal and leukemic myeloid cells. *Science.* 1986, 232 (4746): 61–5.
94. Spinillo A, Capuzzo E, Stronati M, [et al.] Effect of preterm premature rupture of membranes on neurodevelopmental outcome: follow up at two years of age. *Br J Obstet Gynaecol.* 1995, 102: 882-887.
95. Tambor V, Kacerovsky M, Andrys C, [et al.]. Amniotic Fluid Cathelicidin in PPROM Pregnancies: From Proteomic Discovery to Assessing Its Potential in Inflammatory Complications Diagnosis. *PLoS One.* 2012, 7(7): e41164.
96. Taylor J, Garite TJ. Premature rupture of membranes before fetal viability. *Obstet Gynecol.* 1984, 64:615–20.
97. Tedder, TF, Isaacs CM, Ernst TJ [et al.]. Isolation and chromosomal localization of cDNAs encoding a novel human lymphocyte cell surface molecule, LAM-1. Homology with the mouse lymphocyte homing receptor and other human adhesion proteins. *J. Exp. Med.* 1989; 170:123.
98. Thomas J, Liu F, Link DC. "Mechanisms of mobilization of hematopoietic progenitors with granulocyte colony-stimulating factor". *Curr. Opin. Hematol.* 2002, 9 (3): 183–9.
99. Torbé A, Kowalski K. Maternal serum and vaginal fluid C-reactive protein levels do not predict early-onset neonatal infection in preterm premature rupture of membranes. *J Perinatol.* 2010, 30(10): 655-9.
100. van der Ham DP, van der Heyden JL, Opmeer BC, [et al.]. Management of late-preterm premature rupture of membranes: the PPROMEXIL-2 trial. *Am J Obstet Gynecol.* 2012, 207:276.
101. van der Heyden JL, van Teeffelen SS, Coolen AC, [et al.]. Is it useful to measure C-reactive protein and leukocytes in patients with prelabor rupture of membranes? *Am J Perinatol.* 2010, 27(7): 543-7.

102. Vergani P, Ghidini A, Locatelli A, [et al.]. Risk factors for pulmonary hypoplasia in second-trimester premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1994, 170: 1359–64.
103. Walsh LJ, Trinchieri G, Waldorf HA, [et al.]. Human dermal mast cells contain and release tumor necrosis factor alpha, which induces endothelial leukocyte adhesion molecule 1. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1991, 88 (10): 4220–4.
104. Waters TP, Mercer BM. The management of preterm premature rupture of the membranes near the limit of fetal viability. *Am J Obstet Gynecol.* 2009, 201(3): 230-40.
105. Watts DH, Krohn MA, Hillier SL, [et al.]. Characteristics of women in preterm labour associated with elevated C-reactive protein levels. *Obstet Gynecol.* 1993, 82: 509–14.
106. Weiner CP, Renk K, Klugman M. The therapeutic efficacy and costeffectiveness of aggressive tocolysis for premature labor associated with premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1988;159: 216–22.
107. Wolfensberger A, Zimmermann R, von Mandach U. Neonatal mortality and morbidity after aggressive longterm tocolysis for preterm premature rupture of the membranes. *Fetal Diagn Ther.* 2006, 21: 366-373.
108. Yoon BH, Romero R, Park JS, [et al.] Fetal exposure to an intraamniotic inflammation and the development of cerebral palsy at the age of three years. *Am J Obstet Gynecol.* 2000; 182: 675-681.
109. Yoon BH, Romero R, Park JS, [et al.]. Fetal exposure to an intra-amniotic inflammation and the development of cerebral palsy at the age of three years. *Am J Obstet Gynecol.* 2000, 182: 675–81.
110. Zhang W, Wang L, Zhao Y, [et al.]. Changes in cytokine (IL-8, IL-6 and TNF-alpha) levels in the amniotic fluid and maternal serum in patients with premature rupture of the membranes. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei).* 2000, 63(4): 311-5.
111. Zou Li, Zhang Huijun, Zhu Jianfang, [et al.]. The Value of the Soluable Intercellular Adhesion Molecule-1 Levels in Maternal Serum for Determination of Occult Chorioamnionitis in Premature Rupture of Membranes. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci.* 2004; 24(2): 154-7.

8. STRESZCZENIE

Przedwczesne pęknięcie błon płodowych występujące z częstością 3–10% oraz przedwczesne pęknięcie błon płodowych przed terminem dotyczące ok. 1–3% wszystkich ciąż i 30–40% przypadków porodu przedwczesnego nadal pozostaje istotnym problemem medycyny perinatalnej. Celem pracy była ocena wyników położniczych matki i noworodka w zależności od czasu trwania pęknięcia błon płodowych. Cel pracy został zrealizowany poprzez oznaczenie stężeń wybranych cytokin prozapalnych u surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu, sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka oraz poprzez ocenę wyników położniczych matki i noworodka. Badanie przeprowadzono w grupie 56 pacjentek, u których rozpoznano przedwczesne pęknięcie błon płodowych pomiędzy 30+0 a 36+6 tygodniem ciąży. Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu nr 517/12. Pacjentki włączone do badania zostały podzielone retrospektywnie według trzech kryteriów: długości okresu pęknięcia błon płodowych, wrodzonego zakażenia noworodka oraz zakażenia matki. Po spełnieniu wszystkich kryteriów włączenia do badania pobrano w przeciągu 6 godzin od pęknięcia błon płodowych krew z żyły odłokciowej celem oznaczenia stężenia w surowicy krwi wybranych cytokin prozapalnych (IL-6, TNF- α , G-CSF) oraz wykonano wybrane badania laboratoryjne (morfologia, CRP). Po porodzie, w przeciągu 12 godzin, u wszystkich pacjentek ponownie oznaczono morfologię, stężenie CRP oraz stężenie badanych cytokin w surowicy krwi żyłnej. W tym samym czasie pobierano także krew włośniczkową noworodka celem oznaczenia stężenia sL-Selektyny. Morfologia krwi obwodowej oznaczana była przy użyciu metody cytometrii przepływowej oraz lasera półprzewodnikowego. Stężenie CRP oznaczano metodą immunoturbidymetrii wzmocnionej cząstkami (Roche). Oznaczenie badanych cytokin wykonano metodą ELISA.

GRUPY A I B (A – poród ≤ 48 h od PPRM; B – poród >48 h od PPRM)

Pomiędzy grupami A i B różnica w długości okresu od pęknięcia błon płodowych do porodu była istotna statystycznie i wynosiła odpowiednio 1 i 5 dni. Podobnie częstość zakażenia matki pomiędzy grupami A i B wykazywała istotną statystycznie różnicę (2 vs. 9). W obu grupach stężenie leukocytów oraz CRP w surowicy krwi matki w przeciągu 12 godzin od porodu wzrastało i wykazywało istotną statystycznie różnicę w stosunku do wartości uzyskanych w okresie ≤ 6 godzin od PROM (A – 10,11 vs. 15,12 G/l i 3,01 vs. 27,11 mg/l oraz B – 11,12 vs. 16,11 G/l i 4,16 vs. 48,23 mg/l). Noworodki w grupie A przebywały w Oddziale Neonatologicznym krócej niż noworodki z grupy B (7 vs. 10 dni). Również liczba wentylowanych noworodków w grupie A była znacząco niższa, aniżeli w grupie B (1 vs. 7). W obu grupach wrodzone zakażenie noworodka występowało z podobną częstością (9 vs. 8). Statystycznie istotną różnicę zaobserwowano także w przypadku stężenia TNF- α w drugim oznaczeniu w surowicy krwi obwodowej pacjentek z obu grup (1,31 vs. 1,79 pg/ml). W przypadku stężenia TNF- α uzyskanego w okresie ≤ 6 godzin od PROM nie wykazano takiej zależności (1,28 vs. 1,25 pg/ml). Stężenie TNF- α w czasie ≤ 12 godzin od porodu w grupie A pozostawało na podobnym poziomie wartości (1,31 vs. 1,28 pg/ml), natomiast w grupie B wykazywało wyraźną tendencję wzrostową (1,25 vs. 1,79 pg/ml) w porównaniu do stężenia uzyskanego w okresie 6 godzin od PPRM. Pole pod krzywą ROC dla testu oceniającego predykcję porodu w czasie >48 godzin od PROM w przypadku przedporodowego stężenia G-CSF, TNF- α , IL-6, leukocytów czy CRP w surowicy krwi matki nie przekroczyło wartości 0,8 dla żadnego z ww. parametrów.

GRUPY C I D (C – noworodki bez cech wrodzonego zakażenia – 39; D – noworodki z cechami wrodzonego zakażenia – 17)

Pomiędzy grupami C i D stężenie CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu różniło się znacząco i wynosiło odpowiednio 23,81 mg/l oraz 68,92 mg/l. Wiek ciążowy w momencie pęknięcia błon płodowych oraz w chwili porodu także był zdecydowanie odmienny w obu grupach (34 vs. 33 t.c. oraz 35 vs. 34 t.c.). Liczba matek, u których stwierdzono cechy zakażenia była znacząco większa w grupie noworodków z rozpoznaniem wrodzonym zakażeniem w porównaniu do liczby matek noworodków bez cech zakażenia (9 vs. 2). W obu grupach stężenie leukocytów oraz CRP w surowicy krwi matki w

przeciągu 12 godzin od porodu wzrastało i wykazywało istotną statystycznie różnicę w stosunku do wartości uzyskanych w okresie ≤ 6 godzin od PROM (C – 11,19 vs. 15,31 G/l i 4,01 vs. 23,81 mg/l oraz D – 9,55 vs. 17,92 G/l i 3,39 vs. 68,92 mg/l). Noworodki z grup C i D różniły się między sobą znacząco w zakresie średniej masy urodzeniowej, która wynosiła odpowiednio 2650 g oraz 2250 g. Podobnie stan noworodków określany w skali Apgar w pierwszej oraz piątej minucie życia był wyraźnie odmienny dla noworodków z obu grup (1' – 10 vs. 7 oraz 5' – 10 vs. 8). Stężenie CRP pomiędzy grupami różniło się znacząco i wynosiło odpowiednio 1,26 oraz 11,49 mg/l. W przypadku długości hospitalizacji w Oddziale Neonatologicznym także zanotowano istotne statystycznie różnice (7 vs. 11 dni). W obu grupach stężenie TNF- α w okresie ≤ 6 godzin od PROM w surowicy krwi obwodowej matki nie wykazywało istotnej statystycznie różnicy (1,51 vs. 1,43 pg/ml), natomiast stężenie tej samej cytokiny zmierzone w przeciągu 12 godzin od porodu miało odpowiednio wartość 1,45 oraz 1,70 pg/ml ($p < 0,05$). Wartość predykcyjna stężenia TNF- α w czasie ≤ 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki mieściła się w zakresie wartości wyników średnich dla możliwości wystąpienia wrodzonego zakażenia noworodka (AUC 0,680). Proponowany punkt odcięcia wyniósł 1,619 pg/ml, czułość i specyficzność miała wartość odpowiednio 70,6 i 71,6%. Pole pod krzywą ROC dla testu oceniającego predykcję wrodzonego zakażenia noworodka na podstawie stężenia CRP zmierzonego w przeciągu 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki miało wartość 0,77 i było największe spośród analizowanych parametrów. Proponowany punkt odcięcia miał wartość 68,85 mg/ml, a czułości i specyficzności wynosiła odpowiednio 52,9 i 94,9%.

GRUPY E I F (E – pacjentki bez cech zakażenia – 45; F – pacjentki z cechami zakażenia)

W grupie pacjentek niezakażonych długość okresu od pęknięcia błon płodowych do porodu wynosiła 2, a w grupie pacjentek zakażonych 4 dni ($p < 0,05$). Spośród ocenianych parametrów stanu zapalnego w czasie ≤ 6 godzin od PROM tylko CRP po porodzie wykazywało istotną statystycznie różnicę pomiędzy pacjentkami z obu grup. Stężenie CRP w drugim oznaczeniu wynosiło 23,83 oraz 112,61 mg/l ($p < 0,05$). Ponad 80% porodów w grupie F odbyło się po 48 godzinach od pęknięcia błon płodowych, w porównaniu do 40% w grupie E. Noworodki kobiet z cechami zakażenia w porównaniu do noworodków pacjentek niezakażonych miały wyższe stężenie leukocytów w surowicy krwi (22,66 vs. 15,97 G/l),

dłużej były hospitalizowane (12 vs. 7 dni) oraz uzyskiwały niższą punktację w skali Apgar w 5 minucie życia (8 vs. 10 pkt.). Ponad 80% noworodków kobiet z grupy F wykazywało cechy zakażenia wrodzonego w porównaniu do zaledwie 17% noworodków matek zdrowych. Statystycznie istotną różnicę zaobserwowano pomiędzy grupami E i F w przypadku stężenia TNF- α w drugim oznaczeniu, które wynosiło odpowiednio 1,36 oraz 1,79 pg/ml. Wartość predycyjna stężenia TNF- α w przeciągu ≤ 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki mieściła się w zakresie wartości wyników satysfakcjonujących (AUC – 0,778) dla możliwości wystąpienia zakażenia u matki przy proponowanym punkcie odcięcia 3,704 pg/ml oraz czułości i specyficzności wynoszącej odpowiednio 18,2 i 95,6%. Pole pod krzywą ROC dla testu oceniającego predykcję zakażenia u matki na podstawie poporodowego stężenia CRP w surowicy krwi matki miało wartość 0,962 przy proponowanej wartości punktu odcięcia 68,85 mg/ml oraz czułości i specyficzności wynoszącej odpowiednio 90,9 i 97,8%.

WNIOSKI

1. Ciężarne z PPRM pomiędzy 30+0 a 36+6 tygodniem ciąży, u których poród odbył się po upływie 48 godzin od pęknięcia błon płodowych wykazywały większe ryzyko wystąpienia IAI i/lub zakażenia w okresie połogu.
2. Noworodki urodzone po upływie 48 godzin od stwierdzenia PPRM były bardziej narażone na przedłużoną hospitalizację w OION przy takim samym ryzyku wystąpienia wrodzonego zakażenia noworodkowego.
3. Niższy wiek ciążowy w momencie porodu oraz niższa masa urodzeniowa noworodka są związane ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia wrodzonego zakażenia noworodka.
4. Oznaczenie stężenia TNF- α w surowicy krwi matki w okresie ≤ 12 godzin od porodu posiada wartość predycyjną w stosunku do wystąpienia wrodzonego zakażenia noworodka oraz zakażenia matki.
5. W przeprowadzonym badaniu proponowany punkt odcięcia dla stężenia TNF- α w przypadku zakażenia noworodka wyniósł 1,619 pg/ml (czułość-70,6%, specyficzność-71,8%), natomiast dla zakażenia matki 3,704 pg/ml (czułość-18,2%, specyficzność-95,6%).

6. Oznaczenie stężenia CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu posiada wysoką wartość predykcyjną w prognozowaniu wrodzonego zakażenia noworodka oraz zakażenia ciężarnej i/lub położnicy.
7. Ocena stężenia G-CSF, TNF- α , IL-6, leukocytów i CRP w surowicy krwi matki w okresie ≤ 6 godzin od PPRM lub G-CSF, IL-6 i leukocytów w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu, a także sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka do 12 godzin od porodu nie posiada wartości predykcyjnej w stosunku do zakażenia noworodka lub zakażenia ciężarnej i/lub położnicy.

9. SUMMARY

INTRODUCTION

Premature rupture of membranes at a frequency of 3-10% and preterm premature rupture of membranes affecting 1-3% of all pregnancies and 30-40% of preterm deliveries still remains a major problem in perinatal medicine. The aim of this study was to evaluate the maternal and neonatal outcome depending on the latency period of rupture of membranes. The aim of this analysis was carried out by measuring proinflammatory cytokine levels in maternal serum within 6hrs after PPRM and in the period of up to 12hrs after delivery, sL-selectin in neonatal serum within 12hrs after delivery, and by evaluating the maternal and neonatal outcomes. The investigation was conducted on a group of 56 women diagnosed with PPRM between 30+0 and 36+6 weeks gestational age. The study was approved by the Bioethical Committee of Poznan University of Medical Sciences (572/12). All the participants were divided retrospectively depending on three criteria: the length of latency period, neonatal infection, and maternal infection. After fulfilling the enrollment criteria in the period of up to 6hrs after PPRM, a sample of 10 ml of venous blood for laboratory testing was taken and the level of leukocytes, CRP, and proinflammatory cytokines (IL-6, TNF- α , G-CSF) were measured. After 12hrs from delivery a second sample of venous blood was taken to reassess the leukocyte, CRP, and proinflammatory cytokine (IL-6, TNF- α , G-CSF) levels. In the same period of time, a sample of neonatal capillary blood was taken to measure the serum sL-selectin level. The CRP level was measured by immunoturbidimetry enhanced with particles (Roche), while the measurement of proinflammatory cytokines was performed using the ELISA method.

GROUPS A AND B (A – delivery \leq 48hrs after PPRM; B – delivery $>$ 48hrs after PPRM)

Between groups A and B, the difference in the length of latency period from PPRM to delivery was statistically significant (1 vs. 5 days respectively). Similarly, maternal infection rates between groups A and B showed a statistically significant difference (2 vs. 9 cases). In both groups, the concentration of leukocytes and CRP in maternal serum within 12hrs after delivery increased and showed a statistically significant difference compared to the values obtained in the period of up to 6hrs after PPRM (A – 10.11 vs. 15.12 G/l and 3.01 vs. 27.11 mg/l; B – 11.12 vs. 16.11 G/l and 4.16 vs. 48.23 mg/l). The length of neonatal hospitalization was shorter in group A than in group B (7 vs. 10 days). The number of ventilated newborns in group A was significantly lower than in group B (1 vs. 7 cases). In both groups, neonatal infection was diagnosed with a similar frequency (9 vs. 8). Between groups A and B a statistically significant difference in maternal serum TNF- α levels in the period of up to 12hrs after delivery was observed (1.31 vs. 1.79 pg/ml respectively). There were no differences in the concentration of TNF- α in maternal serum obtained within 6hrs after PPRM (1.28 vs. 1.25 pg/ml respectively). The concentration of TNF- α in the period of up to 12hrs after delivery in group A remained at a similar level (1.31 vs. 1.28 pg/ml), while in group B a clear upward trend was observed (1.25 vs. 1.79 pg/ml) compared to the concentration levels obtained within 6hrs after PPRM. The area under the ROC curve did not exceed the value of 0.8 for any of the tests (based on the concentration of the IL-6, TNF- α , G-CSF, leukocytes, or CRP measured in the period of up to 6hrs after PPRM) assessing the possibility of delivering within 48hrs after PPRM.

GROUPS C AND D (no signs of neonatal infection - 39 newborns; D – neonatal infection - 17 newborns)

Between groups C and D, the concentration of CRP in maternal serum within 12 hours after delivery was significantly different (23.81 mg/l and 68.92 mg/l respectively). Gestational age at PPRM and at delivery was also significantly different when comparing groups C and D (34 vs. 33 and 35 vs. 34 gestational weeks respectively). The maternal infection rate was significantly higher in group D compared to group C (9 vs. 2 cases). In both groups, the concentration of leukocytes and CRP in maternal serum within 12hrs after delivery was

increased and showed a statistically significant difference compared to the values obtained in the period of up to 6hrs after PPRM (C – 11.19 vs. 15.31 G/l and 4.01 vs. 23.81 mg/l; D – 9.55 vs. 17.92 G/l and 3.39 vs. 68.92 mg/l). There was a statistically significant difference in the neonatal birth weight between groups C and D, which was 2650 g and 2250 g, respectively. Similarly, the achieved neonatal Apgar score in the first and fifth minute of life was lower in group D than in group C (1' – 10 vs. 7 and 5' – 10 vs. 8 points respectively). The CRP concentration in the neonatal serum was higher (1.26 and 11.49 mg/l, $p < 0.05$) and the length of hospitalization was longer (7 vs. 11 days, $p < 0.05$) in the group of newborns with signs of neonatal infection. Between groups C and D, a statistically significant difference in the maternal serum TNF- α levels in the period of up to 12hrs after delivery was observed (1.45 vs. 1.70 pg/ml respectively). There were no differences in the concentration of TNF- α in maternal serum obtained within 6hrs after PPRM (1.53 vs. 1.43 pg/ml respectively). The predictive value of the maternal serum TNF-alpha concentration testing within 12 hours after delivery was in the range of the average results (AUC – 0.680) for the possibility of neonatal infection. The proposed cutoff point was 1.619 pg/ml, whereas the sensitivity and specificity was 70.6 and 71.6%, respectively. The area under ROC curve for maternal serum CRP concentration testing was 0.77, which was the highest among the analyzed parameters. The proposed cutoff point was 68.85 mg/l, whereas the sensitivity and specificity was 52.9 and 94.9%, respectively.

GROUPS E AND F (E – no signs of maternal infection – 45 patients; F – maternal infection – 11 patients)

In group E, the latency period from PPRM to delivery was statistically longer than in group F (4 vs. 2 days). Among the analyzed inflammatory markers (leukocytes and CRP) within 6hrs after PPRM and 12hrs after delivery, only maternal serum CRP concentration in the period of up to 12hrs after delivery was statistically different between groups E and F (23.83 and 112.61 mg/l respectively). In group F, more than 80% of deliveries took place 48hrs after PPRM compared to 40% in group E ($p < 0.05$). Newborns in group F had higher serum leukocyte concentrations (22.66 vs. 15.97 G/l), the hospitalization was longer (12 vs. 7 days), and achieved Apgar score in fifth minute of life was lower (8 vs. 10 points) compared to group E. The neonatal infection rate in group F was also higher than in group E (80 vs. 17%). Between groups E and F, a statistically significant difference in the maternal serum TNF- α

levels in the period of up to 12hrs after delivery was observed (1.36 vs. 1.79 pg/ml respectively). There were no differences in the concentrations of TNF- α in maternal serum obtained within 6hrs from PPROM (1.37 vs. 1.25 pg/ml respectively). The predictive value of the maternal serum TNF-alpha concentration testing within 12 hours of delivery was in the range of the satisfactory results (AUC – 0.778) for the possibility of neonatal infection. The proposed cutoff point was 3.704 pg/ml, whereas the sensitivity and specificity was 18.2 and of 95.6%, respectively. The area under ROC curve for maternal serum CRP concentration testing was 0.962 and was the highest among the analyzed parameters. The proposed cutoff point was 68.85 mg/l, whereas the sensitivity and specificity was 90.9 and 97.8%, respectively.

COCLUSIONS

1. Pregnant patients with PPROM between 30+0 and 36 +6 weeks of gestation delivering after 48 hours after PPROM had a higher risk of IAI and/or infection in the postpartum period.
2. Infants born after 48 hours after PPROM were more likely to have prolonged hospitalization, however the risk of neonatal infection was not elevated.
3. A lower gestational age at delivery and a lower birth weight are associated with an increased risk of neonatal infection in newborn.
4. The TNF-alpha concentration testing in the period of up to 12hrs after delivery had a predictive value of neonatal and maternal infection.
5. In the conducted study, the proposed cut-off point for TNF- α concerning neonatal infection was 1.619 pg/ml (sensitivity-70.6%, specificity-71.8%), whereas concerning maternal infection it was 3.704 pg/ml (sensitivity-18.2%, specificity-95.6%).
6. The CRP concentration testing in the period of up to 12hrs after delivery has a predictive value for neonatal and maternal infection.
7. The maternal serum G-CSF, TNF- α , IL-6, leukocytes, and CRP concentration testing within 6hrs after PPROM, G-CSF, IL-6, and leukocytes concentration testing in the period of up to 12hrs after delivery, and neonatal serum sL-selectin concentration testing in the period of up to 12hrs after delivery has no predictive value for the neonatal and maternal infection.

10. SPIS TABEL, RYCIN I WYKRESÓW

SPIS TABEL

Tabela 1.	Czynniki ryzyka przedwczesnego pęknięcia błon płodowych przed terminem	9
Tabela 2.	Charakterystyka pacjentek włączonych do badania.	32
Tabela 3.	Kryteria włączenia do badania.	33
Tabela 4.	Charakterystyka badanych pacjentek – grupy A i B.	38
Tabela 5.	Charakterystyka badanych pacjentek – grupy C i D.	38
Tabela 6.	Charakterystyka badanych pacjentek – grupy E i F.	39
Tabela 7.	Kryteria włączenia do badania – grupy A i B.	39
Tabela 8.	Kryteria włączenia do badania – grupy C i D.	40
Tabela 9.	Kryteria włączenia do badania – grupy E i F.	41
Tabela 10.	Wynik położniczy matki (grupy A i B).	53
Tabela 11.	Stężenie leukocytów oraz CRP w surowicy krwi matki w zależności od czasu pobrania próbki (≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu) (grupy A i B).	54
Tabela 12.	Sposób zakończenia ciąży (grupy A i B).	54
Tabela 13.	Wynik położniczy noworodka (grupy A i B).	55
Tabela 14.	Wrodzone zakażenie noworodka (grupy A i B).	56
Tabela 15.	Badane cytokiny w zależności od przynależności do grupy A lub B.	56
Tabela 16.	Badane cytokiny w zależności od czasu pobrania próbki (w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu) (gr. A i B).	57
Tabela 17.	Ocena wartości predykcyjnej porodu $>48h$ od pęknięcia błon płodowych na podstawie stężenia G-CSF, TNF- α , IL-6, leukocytów i CRP w okresie ≤ 6 godzin od PROM.	61
Tabela 18.	Wynik położniczy matki (grupy C i D).	62
Tabela 19.	Stężenie leukocytów oraz CRP w surowicy krwi matki w zależności od czasu pobrania próbki (≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu) (grupy C i D).	63

Tabela 20.	Sposób zakończenia ciąży oraz poród ≤ 48 godzin i >48 godzin od PROM (grupy C i D).	63
Tabela 21.	Wynik położniczy noworodka (grupy C i D).	65
Tabela 22.	Badane cytokiny w zależności od przynależności do grupy C lub D.	66
Tabela 23.	Badane cytokiny w zależności od czasu pobrania próbki (≤ 6 godzin od PROM lub ≤ 12 godzin od porodu) (grupy C i D).	67
Tabela 24.	Predykcja wrodzonego zakażenia noworodka na podstawie stężenia G-CSF, TNF- α , IL-6, leukocytów i CRP w surowicy krwi matki w okresie ≤ 6 godzin od PROM i ≤ 12 godzin od porodu oraz stężenia sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka.	71
Tabela 25.	Wynik położniczy matki (grupy E i F).	74
Tabela 26.	Stężenie leukocytów oraz CRP w surowicy krwi matki w zależności od czasu pobrania próbki (≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu) (grupy E i F).	75
Tabela 27.	Sposób zakończenia ciąży (grupy E i F)	75
Tabela 28.	Wynik położniczy noworodka (grupy E i F).	77
Tabela 29.	Wrodzone zakażenie noworodka (grupy E i F).	78
Tabela 30.	Badane cytokiny w zależności od przynależności do grupy E lub F.	78
Tabela 31.	Badane cytokiny w zależności od czasu pobrania próbki (przed i po porodzie) (grupy E i F).	79
Tabela 32.	Predykcja zakażenia u matki na podstawie stężenia G-CSF, TNF- α , IL-6, leukocytów i CRP w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki oraz stężenia sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka.	83
Tabela 33.	Stężenie G-CSF w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki w badanych grupach.	89
Tabela 34.	Stężenie TNF- α w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki w badanych grupach.	90
Tabela 35.	Stężenie IL-6 w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu w surowicy krwi matki w badanych grupach.	91
Tabela 36.	Stężenie leukocytów oraz CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu w badanych grupach.	97

SPIS RYCIN

Rycina 1.	Schemat oznaczenia stężenia G-CSF w surowicy krwi żyłnej.	45
Rycina 2.	Schemat oznaczenia stężenia TNF- α w surowicy krwi żyłnej.	47
Rycina 3.	Schemat oznaczenia stężenia IL-6 w surowicy krwi żyłnej.	48
Rycina 4.	Schemat oznaczenia stężenia sL-Selektyny w surowicy krwi żyłnej.	50
Rycina 5.	Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu (grupy A i B).	58
Rycina 6.	Stężenia TNF- α w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu (grupy A i B).	59
Rycina 7.	Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu (grupy A i B).	59
Rycina 8.	Stężenie sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka (grupy A i B).	60
Rycina 9.	Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu (grupy C i D).	68
Rycina 10.	Stężenia TNF- α w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu (grupy C i D).	69
Rycina 11.	Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu (grupy C i D).	69
Rycina 12.	Stężenie sL-Selektyny w zależności od przynależności do grupy C lub D.	70
Rycina 13.	Predykcja wrodzonego zakażenia noworodka na podstawie stężenia TNF- α w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu.	72
Rycina 14.	Predykcja wrodzonego zakażenia noworodka na podstawie stężenia CRP w surowicy krwi matki w czasie ≤ 12 godzin od porodu.	72
Rycina 15.	Stężenie G-CSF w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu (grupy E i F).	80
Rycina 16.	Stężenia TNF- α w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu (gr. E i F).	80
Rycina 17.	Stężenie IL-6 w surowicy krwi matki w czasie ≤ 6 godzin od PROM oraz ≤ 12 godzin od porodu (grupy E i F).	81
Rycina 18.	Stężenie sL-Selektyny w surowicy krwi noworodka w zależności od przynależności do grupy E lub F.	82

- Rycina 19.** Predykcja wystąpienia zakażenia u matki na podstawie stężenia TNF- α w surowicy krwi matki w okresie ≤ 12 godzin od porodu. 84
- Rycina 20.** Predykcja wystąpienia zakażenia u matki na podstawie stężenia CRP w surowicy krwi matki w okresie ≤ 12 godzin od porodu. 84