

Kliniczna wartość oznaczenia interleukiny 1 alfa w diagnostyce zakażenia wewnątrzrodniowego i stanu noworodka w grupie ciężarnych z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych

Clinical usefulness of interleukin 1 alpha measurement in diagnostics of intraamniotic infection and newborn status in the group of pregnant women with premature rupture of membranes

© GinPolMedProject 4 (18) 2010

Artykuł oryginalny/Original article

PAWEŁ KOPYRA, MAGDALENA BARLIK, AGNIESZKA SEREMAK-MROZIKIEWICZ, KRZYSZTOF DREWS

Klinika Perinatologii i Chorób Kobietych, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu
Kierownik: prof. dr hab. Krzysztof Drows

Adres do korespondencji/Address for correspondence:

Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz

Klinika Perinatologii i Chorób Kobietych, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu
ul. Polna 33, 60-535 Poznań

tel. +48 61 8419613, fax. +48 61 8474651, e-mail: asm@data.pl

Statystyka/Statistic

Liczba słów/Word count	1819/2224
Tabele/Tables	1
Ryciny/Figures	0
Piśmiennictwo/References	28

Received: 13.07.2010

Accepted: 19.09.2010

Published: 08.12.2010

Badanie finansowane ze środków pieniężnych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego N 406 061 31/2330. A study financed by The Ministry of Science and Higher Education N 406 061 31/2330.

Streszczenie

Wstęp. Przedwczesne pęknięcie błon płodowych (PROM - *premature rupture of membranes*) uznaje się obecnie za główny czynnik ryzyka wystąpienia zakażenia wewnątrzrodniowego. **Cel pracy.** Ocena przydatności pomiaru stężenia IL-1 alfa w surowicy kobiet ciężarnych z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych w retrospektywnym rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzrodniowego, prognozowaniu czasu przedłużenia ciąży, stanu urodzeniowego i wystąpienia infekcji u noworodków.

Material i metody. W surowicy kobiet ciężarnych (46 z rozpoznaniem klinicznie PROM) oznaczano stężenie IL-1 alfa metodą immunoenzymatyczną ELISA, następnie badano zależności między uzyskanymi wartościami a następującymi parametrami: czasem od momentu wystąpienia PROM do porodu, czasem od wykonania badania do porodu, oceną w skali Apgar, czasem hospitalizacji noworodka, obecnością zakażenia i innych powikłań u noworodka.

Wyniki. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupą kobiet, w której stężenie IL-1 alfa było mniejsze od 3,5 pg/ml oraz grupą, w której stężenie IL-1 alfa było większe od 3,5 pg/ml w zakresie wieku ciążowego w chwili urodzenia, czasu przedłużenia ciąży oraz czasu od pęknięcia błon płodowych do porodu. Również nie zaobserwowano różnic w odniesieniu do stanu noworodka wyrażonego punktacją w skali Apgar i obecnością klinicznych wykładników zakażenia u noworodka.

Wnioski. Nie stwierdzono przydatności pomiaru stężenia IL-1 alfa w retrospektywnym rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzrodniowego występującego u matek noworodków z objawami infekcji wrodzonych. Pomiar stężenia IL-1 alfa w surowicy ciężarnych z PROM nie wykazał przydatności w predykcji czasu przedłużenia ciąży, stanu noworodka po urodzeniu oraz przewidywaniu wystąpienia infekcji wrodzonych u dzieci matek w tej grupie kobiet.

Słowa kluczowe: przedwczesne pęknięcie błon płodowych, interleukina 1, zakażenia noworodka.

Summary

Introduction. Premature rupture of membranes (PROM) is currently considered to be the main risk factor for intraamniotic infection (IAI).

Aim of the study. To evaluate the usefulness of measurement of IL-1 alpha serum concentration at pregnant with PROM (*premature rupture of membranes*) in the retrospective diagnostics of IAI (*intraamniotic infection*), predicting time of pregnancy prolongation and newborn status.

Material and methods. In serum of pregnant women with PROM IL-1 alpha concentration was measured. (ELISA). The relations between received values and the following parameters were examined: time from PROM to the childbirth, time from clinical examination to the birth, Apgar score, time of newborn hospitalization, inborn infection.

Results. There was no statistically significant differences between the group, in which concentration of IL-1 alpha was lower than 3.5 pg/ml, and the group, where IL-1 alpha concentration was higher than 3.5 pg/ml as to the gestational age, time of pregnancy prolongation, time from PROM to the childbirth. In the reference to the newborn condition and inborn infection there was also no differences observed.

Conclusion. The usefulness of IL-1 alpha concentration in the retrospective diagnostics of IAI at mothers of newborns with infection symptoms has not been stated. We have not indicated the usefulness of measurement of IL-1 alpha serum concentration at pregnant with PROM in prediction of pregnancy prolongation, newborn status after delivery and prediction of infections development at babies of mothers with PROM.

Key words: premature rupture of membranes, interleukin 1, newborn infections.

WSTĘP

Przedwczesne pęknięcie błon płodowych (PROM – *premature rupture of membranes*) uznaje się obecnie za główny czynnik ryzyka wystąpienia zakażenia wewnątrzrodniowego (IAI – *intraamniotic infection*) [1,2]. Przedłużający się czas od pęknięcia błon płodowych do porodu oraz częste badanie przez pochwę u pacjentek z PROM istotnie zwiększa ryzyko wystąpienia zakażenia wewnątrzrodniowego [3,4]. Innymi, powszechnie uznawanymi za bardzo istotne, czynnikami ryzyka IAI są nieprawidłowa flora bakteryjna pochwy, a także niewydolność cieśniowo-szyjkowa [5,6].

Zakażenie wewnątrzrodniowe nie pozostaje bez wpływu na stan kobiety ciężarnej, płodu i noworodka, zdecydowanie zwiększając częstość występowania licznych powikłań położniczych, w tym porodu przedwczesnego [2]. Jakkolwiek większość noworodków urodzonych przedwcześnie przeżywa, to noworodki urodzone z cięż powikłanych IAI są narażone na bezpośrednie konsekwencje zakażenia takie jak: posocznica, zapalenie płuc, dysplazja oskrzelowo-płucna, mózgowo-porażenie dziecięce, zespół zaburzeń oddychania czy infekcje dróg moczowych [7-9].

Jak dotąd rozpoznanie IAI opierane było głównie na kryteriach klinicznych i laboratoryjnych [10,11]. Jednak objawy kliniczne występują tylko u około 12,5% ciężarnych z IAI, a obserwacja kliniczna charakteryzuje się niską czułością i swoistością [12-14]. Liczne publikacje ostatnich lat podkreślają przydatność oznaczania poziomu cytokin prozapalnych w surowicy krwi ciężarnej i w płynie owodniowym [14-17]. Wiele autorów sugeruje także korelację stężeń cytokin oznaczanych równocześnie w surowicy matki i noworodka w przebiegu IAI [18-21]. Stąd również próba oceny przydatności oznaczeń cytokin prozapalnych, w tym między innymi interleukiny 1, w prognozowaniu stanu noworodków oraz możliwości rozwinięcia się zakażeń

INTRODUCTION

Premature rupture of membranes (PROM) is currently considered to be the main risk factor for *intraamniotic infection* (IAI) [1,2]. Prolongation of the time from the rupture of fetal membranes until the labor and frequent vaginal examinations in patients with PROM significantly increase the risk of an intraamniotic infection [3,4]. Other IAI risk factors, commonly regarded as very important, are abnormal bacterial flora of the vagina and cervical incompetence [5,6].

Intraamniotic infection is not neutral for the condition of a pregnant woman, fetus and infant, significantly increasing the frequency of numerous obstetric complications, including premature delivery [2]. Although most infants born prematurely survive, infants born as a result of IAI-complicated pregnancies are exposed to direct consequences of an infection, such as: Sepsis, pneumonia, bronchopulmonary dysplasia, cerebral palsy, respiration disorders syndrome or urinary tract infections [7-9].

So far, an IAI diagnosis was mainly based on clinical and laboratory criteria [10,11]. However, clinical symptoms are present only in approximately 12,5% of pregnant women with IAI, and clinical observation is characterized by low sensitivity and specificity [12-14]. Numerous publications of the recent years emphasize the usefulness of determining pro-inflammatory cytokines level in the serum of a pregnant woman and amniotic fluid [14-17]. Many authors also suggest a correlation between cytokines concentrations determined simultaneously in the serum of a mother and an infant in the course of IAI [18-21]. Hence the attempt to evaluate the usefulness of determining pro-inflammatory cytokines, including, among others, interleukin 1, for predicting the condition of infants and the possibility of infections in infants born by mothers in

u noworodków matek, u których wystąpiło przedwczesne pęknięcie błon płodowych z/lub bez towarzyszącego zakażenia.

Nazwa interleukina 1 (IL-1 – *interleukin 1*) obejmuje całą rodzinę cytokin (co najmniej 10 cząsteczek). IL-1 ułatwia rozwój reakcji zapalnej i jest jednym z jej głównych regulatorów [22]. Wydzielana jest głównie przez monocyty i makrofagi. Jednym z najsilniejszych czynników pobudzających jej produkcję są lipopolisacharydy ścian bakterii Gram ujemnych [23]. IL-1 pobudza wydzielanie czynnika aktywującego płytki krwi, prostaglandyn, tlenku azotu, syntezę białek ostrej fazy w wątrobie oraz wpływa na katabolizm w mięśniach, wzrost temperatury ciała, uwalnianie kortykoliberyny. Zaobserwowano również wzrost stężenia IL-1 w płynie owodniowym podczas porodu.

CEL PRACY

Celem pracy była ocena przydatności pomiaru stężenia IL-1 alfa w surowicy krwi kobiet ciężarnych z PROM w retrospektywnym rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzowodniowego, prognozowaniu czasu przedłużenia ciąży, stanu urodzeniowego i wystąpienia infekcji u noworodków.

MATERIAŁ I METODY

W badaniu wykorzystano surowice zebrane od 46 kobiet ciężarnych (wiek 28,5+7,9 lat) z rozpoznaniem klinicznie PROM (wiek ciążowy w momencie stwierdzenia odpływania płynu owodniowego wynosił od 26 do 36 tyg., średnio 30,0+4,5 tyg.). Pacjentki były hospitalizowane w Klinice Perinatologii i Chorób Kobietych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Z badań wykluczono pacjentki, u których stwierdzono ogniska zapalne poza układem rozrodczym, choroby układowe oraz wewnątrzmaciczne obumarcie płodu. Od każdej pacjentki uzyskiwano zgodę na przeprowadzenie badania z wykorzystaniem surowicy pozostałej po standardowych badaniach diagnostycznych. Uzyskano również zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu (485/07).

Przedwczesne pęknięcie błon płodowych rozpoznawano na podstawie odpływania płynu owodniowego, badania za pomocą wziernika oraz przez pomiar indeksu płynu owodniowego (w badaniu ultrasonograficznym).

W ciąży 12 godzin od pęknięcia błon płodowych od każdej ciężarnej pobierano 7 mL krwi żyłnej, którą następnie wirowano w celu otrzymania surowicy. Uzyskane surowice były przechowywane w temperaturze minus 70°C. Pomiar stężenia IL-1 alfa wykonano za pomocą metody immunoenzymatycznej ELISA. Po wykonaniu oznaczeń stężenia badanej interleukiny kobiety ciężarne podzielono na 2 podgrupy: 1) – pacjentki, u których poziom IL-1 alfa wynosił $\leq 3,5$ pg/ml, n=21 pacjentek (stężenia niższe lub równe od wartości przyjętej za normę), 2) – pacjentki, u których

whom premature rupture of membranes with or without accompanying infection occurred.

The name interleukin 1 (IL-1) includes the whole family of cytokines (at least 10 particles). IL-1 facilitates the development of an inflammatory reaction and is one of its regulators [22]. It is released mostly by monocytes and macrophages. One of the most potent factors stimulating its production are lipopolisaccharides of Gram-negative bacterial cell walls [23]. IL-1 stimulates the release of Platelet Activating Factor, prostaglandins, nitrogen oxide, synthesis of acute-phase proteins in the liver and impacts the catabolism in muscles, increase in the body temperature, release of corticoliberin. An increase in the IL-1 concentration in the amniotic fluid was observed, either.

THE OBJECTIVE OF THE STUDY

The objective of the study was to assess usefulness of IL-1 alpha level determination in the serum of pregnant women with PROM for retrospective diagnosis of an intraamniotic infection, predicting the pregnancy prolongation time, condition at birth and the occurrence of an infection in infants.

MATERIAŁ AND METHODS

Serum collected from 46 pregnant women (age 28,5+7,9 years) with clinically diagnosed PROM was used in the study (gestational age at the moment of reporting the release of amniotic fluid ranged from 26 until 36 weeks, on average 30,0+4,5 weeks). The patients were hospitalized in the Clinic of Perinatology and Gynecology of Poznań University of Medical Sciences (Klinika Perinatologii i Chorób Kobietych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu). Patients diagnosed with foci of inflammation beyond the reproductive system, systemic disorders and intrauterine fetal death were excluded from the studies. Each patient gave her consent to conduct the study using the serum left after standard diagnostic tests. The consent of the Bioethics Committee at Poznań University of Medical Sciences was obtained either (485/07).

Premature rupture of membranes was diagnosed on the basis of amniotic fluid release, an examination with a vaginal speculum and measurement of amniotic fluid index (in an ultrasound examination).

Within 12 hours from the fetal membranes rupture, 7 ml of venous blood was collected from each pregnant woman and centrifuged in order to obtain serum. The obtained serum samples were stored at the temperature of minus 70°C. The measurement of IL-1 alpha concentration was performed using immunoenzymatic ELISA method. After determining concentrations of the tested interleukin, the pregnant women were divided into two subgroups: 1) – patients in whom the IL-1 alpha level amounted to $\leq 3,5$ pg/ml, n=21 patients (concentrations lower or equal to the value assumed as normal), 2) – patients in whom the IL-1 alpha level

poziom IL-1 alfa wynosił $> 3,5$ pg/ml, $n=25$ pacjentek (wyższym od ustalonej normy). Cel pracy realizowano poprzez pomiar stężenia IL-1 alfa w surowicy krwi kobiet ciężarnych z PROM, a następnie badanie zależności między uzyskanymi wartościami i następującymi parametrami: czasu od momentu wystąpienia PROM do porodu, czasu od wykonania badania do porodu, oceny w skali Apgar, czasu hospitalizacji noworodka, obecności wrodzonego zakażenia i innych powikłań u noworodka.

Po uzyskaniu wyników stężenia IL-1 alfa w surowicy krwi ciężarnych badano zależności pomiędzy stężeniem badanego markera a czasem przedłużenia ciąży (czas od badania do porodu), punktacją w skali Apgar w 1 oraz w 5 minucie życia noworodka, wystąpieniem objawów klinicznych zakażenia u noworodka, wynikami badań bakteriologicznych (posiewy krwi lub moczu noworodka do 48h po porodzie), wystąpieniem zaburzeń oddychania u noworodka. Za kryterium ciężkości zakażenia u noworodka przyjęto czas hospitalizacji na oddziale noworodkowym zakładając, że noworodki z cięższym przebiegiem zakażenia wymagają dłuższego leczenia i obserwacji. Z obliczeń wyłączone przypadki, w których wystąpił zgon noworodka, ponieważ w tej sytuacji długi czas hospitalizacji nie jest wskaźnikiem ciężkości choroby.

Analiza statystyczna: W celu oceny normalności rozkładu wykorzystano test Shapiro-Wilka. Rozkład badanych parametrów odbiegał od rozkładu normalnego, w związku z czym do porównania rozkładów wartości w badanych grupach wykorzystano test U Manna-Withney'a. Przy użyciu testu chi-kwadrat badano cechy jakościowe. Przyjęto poziom istotności statystycznej $p=0,05$. Przy wykonywaniu obliczeń posłużono się programem STATISTICA v. 6.0.

WYNIKI

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między grupą, w której stężenie IL-1 alfa było wyższe od $3,5$ pg/ml oraz grupą, gdzie stężenie badanego markera było równe lub niższe od $3,5$ pg/ml w zakresie wieku ciążowego w momencie porodu, czasu przedłużenia ciąży oraz czasu od pęknięcia błon płodowych do porodu. Statystycznie znamiennej różnic nie zaobserwowano również w odniesieniu do stanu noworodka ocenianego punktacją w skali Apgar i obecnością klinicznych wykładników zakażenia u noworodka (tab.1).

DYSKUSJA

Problem możliwości wczesnego wykrywania u kobiet ciężarnych przedwczesnego pęknięcia błon płodowych i następczego rozwoju zakażenia wewnątrzodniowego, jak również prognozowanie wystąpienia zakażenia u noworodka jest tematem szeroko dyskutowanym w licznych publikacjach [22,24]. Rozważa się wartość oznaczania stężenia niektórych interleukin (IL-1, IL-6, IL-8), jak również czynnika martwicy nowotworów

amounted to $> 3,5$ pg/ml, $n=25$ patients (higher than the assumed normal level). The aim of the study was achieved by the measurement of IL-1 alpha concentration in the serum of pregnant women with PROM, and evaluating correlation between the values obtained and the following parameters: time from the occurrence of PROM until the delivery, time from the examination until the delivery, assessment according to the Apgar score, the period of hospitalization of an infant, the presence of congenital infection and other complications in the infant.

Having obtained the results of IL-1 alpha concentration in the serum of the pregnant women, the correlation between the concentration of the studied marker and the pregnancy prolongation time (the time from the examination until the delivery), Apgar score in the 1st and 5th minute of life of an infant, the presence of clinical symptoms of inflammation in an infant, the results of bacteriological tests (blood or urine culture of an infant until 48 hours after the delivery), the occurrence of respiratory disorders in an infant. The criterion of severity of an infection in an infant was the hospitalization period in an infant ward, assuming that infants with more severe course of an infection require longer treatment and observation. Cases in which an infant died were excluded from calculations since in such a situation long hospitalization is not indicative of severity of a disease.

Statistical analysis: Shapiro-Wilk test was used to assess distribution normality. Distribution of the studied parameters differed from normal distribution, on account of which the Mann-Whitney U test was used to compare distribution of values in the studied groups. Quality features were measured using the chi-squared test. The level of statistical significance was assumed as $p=0,05$. STATISTICA v. 6.0 software was used for calculations.

RESULTS

No statistically significant differences were noticed between the group in which IL-1 alpha concentration was higher than $3,5$ pg/ml and the group in which the concentration of the studied marker was equal to or lower than $3,5$ pg/ml within the range of the gestational age at the moment of delivery, the pregnancy prolongation time and the time from membranes rupture until the delivery. No statistically significant differences were observed with reference to an infant's condition evaluated by the Apgar score and the presence of clinical symptoms of infection in an infant (tab.1).

DISCUSSION

The problem of possibility of early detection of premature rupture of fetal membranes in pregnant women and resulting intraamniotic infection, as well as predicting the occurrence of infection in an infant is widely discussed in numerous publications [22,24]. The value of determining concentrations of some interleukins (IL-1, IL-6, IL-8), tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) and prolactin in the serum and amniotic fluid is

(TNF alfa – *tumor necrosis factor alpha*) oraz prokalcytoniny w surowicy krwi oraz w płynie owodniowym. Wzrost stężenia IL-6 wyprzedza o kilkadziesiąt godzin wzrost stężenia białka C-reaktywnego, markera do tej pory szeroko stosowanego w diagnostyce IAI. Podobnie wzrost stężenia prokalcytoniny obserwuje się już po 2-3 godzinach od zadziałania patogenu. TNF alfa natomiast jest prawdopodobnie jednym z mediatorów procesów prowadzących do przedwczesnego zakończenia

considered. Increase in IL-6 concentration occurs tens of hours earlier than an increase in the level of C-reactive protein, a marker which has been widely used in IAI diagnostics. Similarly, an increase in procalcitonin level is observed as early as after 2-3 hours from the beginning of a pathogen's activity. On the other hand, TNF alpha is probably one of mediators leading to premature end of pregnancy. The knowledge of the half-life of these cytokines in the serum enables to use

Tab. 1. Stężenie IL-1 alfa w korelacji z czasem przedłużenia ciąży, oceną w skali Apgar oraz rozpoznaniem infekcji u noworodka

	IL-1 alfa ≤ 3,5 n=21	IL-1 alfa > 3,5 n=25	p
Czas trwania ciąży (tyg.)			
średnia	29,4 + 3,4	31,7 + 3,4	ns
zakres	25 - 34	24 - 39	
Czas od momentu wyst. PROM do porodu (dni)			
średnia	12,3	9,7	ns
zakres	1 - 70	1 - 29	
Czas od badania do porodu (dni)			
średnia	7,52	4,8	ns
zakres	0 - 70	0 - 23	
Apgar <7			
1 minuta	11 (52%)	15 (6%)	ns
5 minuta	6 (29%)	9 (36%)	
Hospitalizacja noworodka (dni)			
średnia	31,8	24,9	ns
zakres	1 - 118	1 - 67	
Wrodzone zapalenie płuc	11 (52%)	6 (24%)	ns
Zespół zaburzeń oddychania	0 (0%)	1 (4%)	ns
Posocznica	0 (0%)	3 (12%)	ns
Objawy infekcji u noworodka	11 (52%)	10 (40%)	ns

Tab. 1. IL-1 alpha concentration in correlation with pregnancy prolongation, evaluation in Apgar score and presence of infection at newborn

	IL-1 alfa ≤ 3,5 n=21	IL-1 alfa > 3,5 n=25	p
Time of pregnancy (weeks)			
mean	29,4 + 3,4	31,7 + 3,4	ns
range	25 - 34	24 - 39	
Time from PROM until delivery (days)			
mean	12,3	9,7	ns
range	1 - 70	1 - 29	
Time from examination until delivery (days)			
mean	7,52	4,8	ns
range	0 - 70	0 - 23	
Apgar <7			
1 minute	11 (52%)	15 (6%)	ns
5 minutes	6 (29%)	9 (36%)	
Hospitalization of an infant (days)			
mean	31,8	24,9	ns
range	1 - 118	1 - 67	
Congenital pneumonia	11 (52%)	6 (24%)	ns
Respiratory disorders syndrome	0 (0%)	1 (4%)	ns
Sepsis	0 (0%)	3 (12%)	ns
Infection symptoms in an infant	11 (52%)	10 (40%)	ns

nia ciąży. Znajomość czasu półtrwania tych cytokin w osoczu pozwala na wykorzystanie ich do monitorowania rozwoju reakcji zapalnej i skuteczności prowadzonej terapii. Nie mniej ciekawym problemem jest ocena ewentualnej przydatności oznaczeń cytokin prozapalnych w predykcji stanu noworodków w grupie ciężarnych z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych.

W powyższym badaniu nie wykazano statystycznie istotnego związku stężenia IL-1 alfa w surowicy krwi ciężarnej z czasem przedłużenia ciąży, stanem noworodka po urodzeniu oraz rozpoznaniem infekcji u dzieci matek z PROM. Torbe *i wsp.* oceniali przydatność pomiaru stężenia IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-6 oraz IL-8 w surowicy 65 ciężarnych w przypadku porodu przedwczesnego dla przewidywania wystąpienia infekcji u noworodka. Obserwowana wartość predykcyjna IL-1 alfa w stosunku do wystąpienia zakażeń u noworodków w tym badaniu była niewielka. Zaobserwowano natomiast wyższe stężenie IL-1 beta oraz IL-6 w surowicy ciężarnych, których dzieci urodziły się z objawami infekcji wewnątrzmacicznej lub histologicznie potwierdzonego *chorionamnionitis* [26]. W innym badaniu Torbe *i wsp.* badali stężenie IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-6 oraz IL-8 w wydzielinie pochwy 62 kobiet z PROM. Autorzy odnotowali wyższe stężenie wszystkich badanych markerów, w tym także IL-1 alfa, u kobiet, które urodziły dzieci z objawami infekcji wewnątrzmacicznej, wskazując jednak na średnią wartość predykcyjną wymienionych cytokin w przewidywaniu infekcji u noworodków [25].

W badaniu Shobokshi *i wsp.* analizowano grupę ciężarnych z PROM i IAI. W tej pracy porównano stężenie IL-1 beta, IL-6, TNF alfa oraz interferonu gamma w płynie owodniowym i w surowicy krwi w dwóch grupach ciężarnych – z PROM (30 ciężarnych) oraz z zachowanymi błonami płodowymi (20 ciężarnych). W prawie wszystkich przypadkach PROM z towarzyszącym zakażeniem stwierdzono wzrost stężenia powyższych cytokin w płynie owodniowym, a u połowy tych ciężarnych również w surowicy. U pacjentek z rozpoznaniem PROM, jednak bez objawów infekcji zaobserwowano podwyższone stężenie badanych cytokin jedynie w płynie owodniowym [24].

Za uzupełniający wykładnik ciężkości zakażenia noworodka przyjęto długość hospitalizacji w oddziale noworodkowym. Parametr ten jest w sposób oczywisty modyfikowany przez wiek ciążowy w chwili porodu. U noworodków z objawami wcześniactwa czas hospitalizacji może ulec wydłużeniu, a punktacja w skali Apgar może być niska nawet przy braku wykładników i zakażenia. Nie można wyeliminować wpływu tego czynnika, pozostaje więc jedynie próba zmniejszenia jego wpływu przez odpowiedni dobór grup badanych. W przypadku zgonu noworodka czas hospitalizacji był fałszywie krótki, dlatego przypadków tych nie brano pod uwagę. Kolejnym z kryteriów był czas przedłużenia ciąży rozumiany jako czas upływający od pobrania materiału do badania a urodzeniem.

them to monitor the development of an inflammation and the efficacy of a therapy. Another interesting problem is the assessment of possible usefulness of determining pro-inflammatory cytokines levels for predicting the state of infants in the group of pregnant women with PROM.

No statistically significant relation between the concentration of IL-1 alpha in the serum of a pregnant women and pregnancy prolongation time, the condition of an infant after birth and a diagnosis of infection in children of mothers with PROM. Torbe *et al.* assessed the usefulness of determining IL-1 alpha, IL-1 beta, IL-6 and IL-8 concentration in the serum of 65 pregnant women in the case of a premature delivery for predicting the occurrence of an infection in an infant. The observed predictive value of IL-1 alpha in relation to the occurrence of infections in infants was not significant in this study. However, higher concentration of IL-1 beta and IL-6 was observed in the serum of pregnant women whose children were born with symptoms of an intrauterine infection or histologically confirmed *chorionamnionitis* [26]. In another study Torbe *et al.* studied IL-1 alpha, IL-1 beta, IL-6 and IL-8 concentration in the vaginal secretion of 62 women with PROM. The authors recorded higher concentration of all studies markers, including IL-1 alpha, in women who gave birth to children with symptoms of intrauterine infection, indicating, however, average predictive value of the mentioned cytokines for predicting infections in infants [25].

In a study by Shobokshi *et al.*, a group of pregnant women with PROM and IAI was analyzed. In this study concentration of IL-1 beta, IL-6, TNF alpha and interferon gamma in the amniotic fluid and serum in two groups of women was compared – with PROM (30 pregnant women) and with intact fetal membranes (20 pregnant women). In almost all cases of PROM accompanied by infection, an increase in the above-mentioned cytokines in the amniotic fluid, and in a half of these pregnant women also in the serum. In patients with diagnosed PROM, but without symptoms of infection, increased cytokines level was observed only in the amniotic fluid [24].

An additional parameter of severity of infection in an infant was the period of hospitalization in an infant ward. This parameter is clearly modified by the gestational age at the moment of delivery. In infants with symptoms of prematurity, the time of hospitalization may be prolonged, and the Apgar score may be low even in case of lack of parameters and infection. The influence of this factor cannot be eliminated, therefore the only solution is an attempt to reduce its impact by appropriate selection of study groups. In case of death of an infant, the period of hospitalization was falsely short, therefore these cases were not considered. Another criterion was the time of pregnancy prolongation, understood as the time since a sample collection until birth. This criterion allows to predict the time of pre-

Kryterium to pozwala przewidywać czas, o jaki uda się przedłużyć ciążę w przypadku decyzji o postępowaniu zachowawczym. W przypadku wyniku pozwalającego z dużym prawdopodobieństwem założyć, że przy postępowaniu zachowawczym prognozowany czas przedłużenia ciąży będzie krótki (do 24 godz.), korzyści wynikające z takiego postępowania będą bardzo niewielkie. W pracy nie wykazano wartości predykcyjnej pomiaru IL-1 alfa w stosunku do wymienionych powyżej kryteriów.

Obecnie w ocenie retrospektywnej standardem powszechnie stosowanym w rozpoznawaniu IAI jest zakażenie u noworodka potwierdzone posiewami krwi, moczu czy płynu mózgowo-rdzeniowego. Stąd rozpoznanie infekcji u noworodka w ciągu pierwszych 48 godzin życia jest równoznaczne ze wstecznym rozpoznaniem IAI u matki. W powyższym badaniu otrzymane rezultaty nie potwierdzają przydatności oznaczeń IL-1 alfa w retrospektywnym rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzrodniowego u matki noworodków z objawami infekcji wrodzonych.

Oprócz oceny przydatności IL-1 alfa w prognozowaniu wystąpienia zakażeń u noworodków w przypadku PROM, w pracy poddano również zaopiniowaniu przydatność pomiaru tej interleukiny w przewidywaniu stanu urodzeniowego noworodka. Jednym z wykładników oceny stanu noworodka zaraz po urodzeniu jest punktacja w skali Apgar w 1 i 5 minucie życia. W wielu publikowanych obecnie pracach poddaje się w wątpliwość przydatność skali Apgar, zwracając zarazem uwagę na większą wartość oceny w skali Apgar w 5 niż 1 minucie. Jednak ze względu na prostotę i bezinwazyjność tej metody zdecydowano się uwzględnić ją również w powyższym badaniu.

W przypadku, kiedy materiał do badania został pobrany przed włączeniem antybiotykoterapii, a przy obecności wczesnej postaci zakażenia, stężenia markerów mogą być podwyższone, jednak prawidłowa antybiotykoterapia doprowadzić może do zahamowania rozwoju infekcji, a w konsekwencji do braku objawów zakażenia noworodka po urodzeniu oraz wydłużenia czasu upływającego od pobrania materiału do porodu. W badanej grupie wszystkie pacjentki otrzymywały antybiotykoterapię. Badanie rozwoju zakażenia i stężeń markerów przy braku stosowania antybiotyków było niemożliwe ze względów etycznych.

W ocenie wartości diagnostycznej testu uwzględnia się przydatność diagnostyczną, dostępność, bezpieczeństwo, czas potrzebny do wykonania oznaczeń, koszty badania oraz akceptację badania przez pacjentki. Odnalezienie jednak idealnego markera dla wczesnego rozpoznania IAI ciągle wydaje się być wątpliwe. W chwili obecnej w diagnostyce IAI należy głównie opierać się na wnikliwej obserwacji klinicznej w połączeniu z obiektywną oceną wyników badań laboratoryjnych. Podstawą postępowania w przypadku podejrzenia IAI pozostają: pomiar stężenia białka C-reaktywnego, leukocytozy oraz ocena rozmazu krwi obwodo-

gnancy prolongation if a decision on conservative treatment is taken. In case of a result allowing to assume with high probability that in conservative treatment the predicted pregnancy prolongation time will be short (up to 24 hours), benefits of such a procedure will not be significant. No predictive value of IL-1 alpha measurement was made in relation to the criteria mentioned above.

Currently a commonly used standard in retrospective evaluation in IAI diagnosis is an infection of an infant confirmed by blood, urine or cerebrospinal fluid cultures. Therefore, a diagnosis of infection within the first 24 hours of life is equal to retrospective diagnosis of IAI in the mother. In the above-mentioned study the results obtained do not confirm usefulness of IL-1 alpha determinations in retrospective diagnosis of intraamniotic infection in mothers of infants with symptoms of congenital infections.

Apart from the evaluation of IL-1 alpha usefulness in predicting the occurrence of infections in infants in case of PROM, the study also evaluated usefulness of this interleukin for predicting the condition of an infant at birth. One of parameters of an infant's condition at birth is Apgar score in the 1st and the 5th minute of life. In many currently published studies the usefulness of Apgar score is doubted, indicating better value of Apgar score in the 5th than in the 1st minute. However, due to simplicity and non-invasive character of this method, it was included in the above-mentioned study.

In case that the testing material was collected before the beginning of antibiotic treatment, and with the presence of an early form of infection, concentration of markers may be increased, but appropriate antibiotic treatment may inhibit an infection and lead to lack of symptoms of an infant's infection after birth and prolongation of the time since the sample collection until, delivery. In the evaluated group all patients received antibiotic treatment. Evaluation of a development of infection and marker concentrations without using antibiotics was not possible due to ethical reasons.

Factors considered while evaluating diagnostic value of a test include diagnostic usefulness, availability, safety, time necessary for determinations, test cost and approval of the examination by patients. However, finding an ideal marker for early IAI diagnosis still seems to be questionable. Currently IAI diagnostics should be mostly based on precise clinical observation with objective assessment on laboratory test results. The basic procedures in case of suspecting IAI still remain: measurement of C-reactive protein concentration, leukocytosis and the assessment of peripheral blood smear. In a study by Kopyra et al. it was unambiguously stated that determining PCT and IL-6 concentration in the serum allows to identify patients who will probably give birth to infants with symptoms of severe infection [27,28]. Therefore, in doubtful cases, one should not resign from evaluating the level of pro-inflam-

wej. W badaniu Kopyry *i wsp.* jednoznacznie wykazano, że badanie stężenia PCT i IL-6 w surowicy pozwala na identyfikację pacjentek, które prawdopodobnie urodzą noworodki z objawami ciężkiej infekcji [27,28]. Stąd w wątpliwych przypadkach nie należy rezygnować z oceny stężenia cytokin zapalnych, w tym prokalcytoniny czy interleukiny-6, których przydatność diagnostyczna została już dowiedziona.

WNIOSKI

W powyższym badaniu nie stwierdzono przydatności pomiaru stężenia IL-1 alfa w retrospektywnym rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzrodniowego występującego u matek noworodków z objawami infekcji wrodzonych. Pomiar stężenia IL-1 alfa w surowicy kobiet ciężarnych z PROM nie wykazał przydatności w predykcji czasu przedłużenia ciąży, stanu noworodka po urodzeniu oraz przewidywaniu wystąpienia infekcji wrodzonych u dzieci matek w tej grupie kobiet.

matory cytokines, including procalcitonin or interleukin-6, the diagnostic usefulness of which was proven.

CONCLUSIONS

In the above-mentioned study the usefulness of IL-1 alpha determinations in retrospective diagnosis of intra-amniotic infection in mothers of infants with symptoms of congenital infections was not confirmed. IL-1 alpha level determination in the serum of pregnant women with PROM failed to prove useful for predicting pregnancy prolongation time, condition of an infant at birth and predicting the occurrence of congenital infections in children of mothers in this group of women.

Piśmiennictwo / References:

- Bręborowicz GH, Drews K, Pieńkowski W i wsp.** Zakażenie wewnątrzrodniowe. W: Bręborowicz GH (red.) Cięża wysokiego ryzyka. Ośrodek Wydawnictw Naukowych Poznań; 2010, s.193-210.
- Riggs JW, Blanco J.** Pathophysiology, diagnosis, and management of intraamniotic infection. *Seminars in Perinatology* 1998;22:251-259.
- Newton ER, Prihoda TJ, Gibbs RS.** Logistic regression analysis of risk factors for intra-amniotic infection. *Obstet Gynecol* 1989;73:571-575.
- Soper DE, Mayhall CG, Dalton HP.** Risk factors for intraamniotic infection: a prospective epidemiologic study. *Am J Obstet Gynecol* 1989;161:562-568.
- Newton ER, Piper J, Peairs W.** Bacterial vaginosis and intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:672-677.
- Treadwell MC, Bronsteen RA, Bottoms SF.** Prognostic factors and complication rates for cervical cerclage: a review of 482 cases. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:555-558.
- Dammann O, Leviton A.** Maternal intrauterine infection, cytokines, and brain damage in the preterm newborn. *Pediatr Res* 1997;42:1-8.
- Ferguson MG, Rhodes PG, Morrison JC et al.** Clinical amniotic fluid infection and its effect on the neonate. *Am J Obstet Gynecol* 1985;151:1058-1061.
- Ghezzi F, Gomez R, Romero R et al.** Elevated interleukin-8 concentrations in amniotic fluid of mothers whose neonates subsequently develop bronchopulmonary dysplasia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998;78:5-10.
- Shim SS, Romero R, Hong JS et al.** Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1339-1345.
- Baud O, Emilie D, Pelletier E et al.** Amniotic fluid concentration of interleukin-1 beta, interleukin-6 and TNF-alpha in chorioamnionitis before 32 weeks of gestation: histological association and neonatal outcome. *Br J Obstet Gynaecol* 1999;106:72-77.
- Romero R, Erez O, Espinoza J.** Intrauterine infection, preterm labor, and cytokines. *J Soc Gynecol Investig* 2005;12:463 - 465.
- EI-Bastawissi AY, Williams MA, Riley DE et al.** Amniotic fluid interleukin-6 and preterm delivery: a review. *Obstet Gynecol* 2000;95:1056 - 1064.
- Messer J, Eyer D, Donato L et al.** Evaluation of interleukin-6 and soluble receptors of tumor necrosis factor for early diagnosis of neonatal infection. *J Pediatr* 1996;129:574-80.
- Minkwitz G, Schwab S, Hettlinger S et al.** Predictive value of serum interleukine -6 and interleukine-8 level in preterm labor or rupture of the membranes. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2000;79:667-672.
- Murtha AP, Greig PC, Jimmerson CE et al.** Maternal serum interleukin-6 concentrations in patients with preterm premature rupture of membranes and evidence of infection. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:966-969.
- Murtha AP, Greig PC, Jimmerson CE et al.** Maternal serum interleukin-6 concentration as a marker for impending preterm delivery. *Obstet Gynecol* 1998;91:161-164.
- Coleman MA, Keelan JA, McCowan LM et al.** Predicting preterm delivery: comparison of cervicovaginal interleukin (IL)-1 beta, IL-6 and IL-8 with fetal fibronectin and cervical dilatation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001;95:154-158.
- Lencki SG, Maciulla MB, Eglinton GS.** Maternal and umbilical cord serum interleukin levels in preterm labor with clinical chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynecol* 1994;170:1345-1351.

20. **Yoon BH, Jun JK, Romero R et al.** Amniotic fluid inflammatory cytokines (interleukin-6, interleukin-1 beta, and tumor necrosis factor- alpha), neonatal brain white matter lesions, and cerebral palsy. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:19-26.
21. **Yoon BH, Jun JK, Park KH et al.** Serum C-reactive protein, white blood cell count, and amniotic fluid white blood cell count in women with preterm premature rupture of membranes. *Obstet Gynecol* 1996; 88:1034-1040.
22. **Kazimierzczak IA, Korzeniewski J, Gryboś M.** Ocena zagrożenia zakażeniem wrodzonym u noworodków w oparciu o wartości cytokin: IL-1 alfa, IL-6 i TNF alfa w surowicy krwi i płynie owodniowym ciężarnych oraz we krwi pępowinowej noworodków. *Ginekol Pol* 2003;74:297-302.
23. **Santana-Reyes C, Garcia-Munoz F, Reyes D et al.** Role of cytokines (interleukin-1 beta, 6, 8, tumour necrosis factor-alpha, and soluble receptor of interleukin-2) and C-reactive protein in the diagnosis of neonatal sepsis. *Acta Paediatr* 2003;92:221-227.
24. **Shobokshi A, Shaarawy M.** Maternal serum and amniotic fluid cytokines in patients with preterm premature rupture of membranes with and without intrauterine infection. *Int J Gynaecol Obstet* 2002;79:209.
25. **Tobre A, Czajka R, Kordek A et al.** Value of vaginal fluid proinflammatory cytokines for the prediction of early-onset neonatal infection in preterm premature rupture of the membranes. *J Interferon Cytokine Res* 2007;27:393-8.
26. **Tobre A, Czajka R, Kordek A et al.** Maternal serum proinflammatory cytokines in preterm labor with intact membranes: neonatal outcome and histological associations. *Eur Cytokine Netw* 2007;18:102-7.
27. **Kopyra P.** Ocena przydatności badania stężenia prokalcytoniny, interleukiny 1, interleukiny 6 oraz TNF alfa w diagnostyce zakażeń wewnątrzrodniowych [rozprawa doktorska], Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, 2008.
28. **Kopyra P, Seremak-Mrozikiewicz A, Drews K.** Przydatność oznaczenia PCT, IL-6 oraz CRP w prognozowaniu zakażenia wewnątrzrodniowego i stanu noworodka u ciężarnych z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych. *Ginekol Pol* 2009 [w druku].