

# Markery stresu oksydacyjnego podczas porodu u pacjentek z przedwczesnym odpływaniem płynu owodniowego

## Oxidative stress markers during labour in woman with preterm rupture of membranes

© GinPolMedProject 3 (29) 2013

Artykuł oryginalny/Original article

HURAS HUBERT<sup>1</sup>, WÓJTOWICZ ANNA<sup>1</sup>, RADOŃ-POKRACKA MAŁGORZATA<sup>1</sup>, STETTNER DOMINIKA<sup>1</sup>, REROŃ ALFRED<sup>1</sup>, RYTLEWSKI KRZYSZTOF<sup>1</sup>, JACH ROBERT<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Oddział Kliniczny Kliniki Położnictwa i Perinatologii

Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie

Ordynator: dr hab. med. Hubert Huras

<sup>2</sup> Klinika Ginekologii i Onkologii UJ CM

Kierownik: prof. dr hab. med. Antoni Basta

Adres do korespondencji/Address for correspondence:

Hubert Huras

Oddział Kliniczny Kliniki Położnictwa i Perinatologii

Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie

ul. M. Kopernika 23, 31-501 Kraków

Tel. +48 12 424 84 12; e-mail: obgynsept1@wp.pl

### Statystyka/Statistic

Liczba słów/Word count 1282/1476

Tabele/Tables 3

Ryciny/Figures 0

Piśmiennictwo/References 14

Received: 18.03.2013

Accepted: 20.05.2013

Published: 15.09.2013

### Streszczenie

**Wstęp.** Przedwczesne pęknięcie pęcherza płodowego jest jednym z czynników prowadzących do wystąpienia porodu przedwczesnego. Prawidłowe funkcjonowanie worka owodniowego jest uwarunkowane stabilizacją macierzy zewnątrzkomórkowej, której integralność zależy od metaloproteinaz i tkankowego inhibitora – metaloproteiny. Na aktywność metaloproteinaz mają wpływ markery stanu zapalnego, hormony, czynniki wzrostowe oraz reaktywne formy tlenu. **Cel.** Celem pracy była ocena wybranych markerów stresu oksydacyjnego u rodzących przedwześnie w mechanizmie PROM w porównaniu z rodzącymi o czasie.

**Material i metodyka.** Badaniem objęto 40. Kobiet ciężarnych rodzących przedwześnie w mechanizmie PROM oraz grupę kontrolną 40. kobiet ciężarnych rodzących o czasie w Klinice Położnictwa i Perinatologii UJ CM w okresie od 1 stycznia do 30 grudnia 2009 roku. W celu analizy wybranych parametrów biochemicznych stresu oksydacyjnego oznaczono w surowicy krwi u pacjentek z poszczególnych grup następujące związki: dyzmutazę nadtlenkową (SOD), mieloperoksydazę (MPO), aldehyd malonowy (MDA), reduktazę glutationową (GR), peroksydazę glutationową (GPx), całkowitą zdolność antyoksydacyjną osocza (TAS). Powyższych oznaczeń dokonano w grupach jednokrotnie podczas porodu.

**Wyniki.** W analizowanych grupach poziomy dysmutazy nadtlenkowej, mieloperoksydazy, aldehydu malonowego, reduktazy glutationowej oraz peroksydazy glutationowej były wyższe w grupie badanej. Natomiast wartości całkowitej zdolności antyoksydacyjnej osocza zachowywały się odwrotnie.

**Słowa kluczowe:** stres oksydacyjny, przedwczesne pęknięcie pęcherza płodowego, metaloproteinaza

### Streszczenie

**Introduction.** Preterm rupture of membranes is one of factors leading to preterm delivery. Proper function of the amniotic sac depends on stability of extracellular matrix, integrity of which relies on metalloproteinases and a tissue inhibitor - metalloprotein. Metalloproteinase activity is affected by inflammatory markers, hormones, growth factors and reactive oxygen species.

**Objective.** The study focused on assessment of selected oxidative stress markers in women giving a preterm birth according to the PROM mechanism, compared to women giving birth on time.

**Material and methods.** Forty pregnant women giving a preterm birth according to the PROM mechanism and a control group of 40 pregnant women giving an on-term birth in the Department of Obstetrics and Perinatology of the Jagiellonian University Collegium Medicum between January 1<sup>st</sup> and December 30<sup>th</sup> 2009 were included in the study. The following compounds were determined in blood serum collected from patients belonging to both groups in order to analyse selected parameters of oxidative stress: superoxide dismutase (SOD), myeloperoxidase (MPO), malonic aldehyde (MDA), glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GPx), total antioxidant status of plasma (TAS). The above mentioned determinations were performed once, during childbirth.

**Results.** In the analysed groups the levels of superoxide dismutase, myeloperoxidase, malonic aldehyde, glutathione reductase and glutathione peroxidase were higher in the study group compared to the control. An opposite observation was made for total antioxidant status.

**Key words:** oxidative stress, preterm rupture of membranes, metalloproteinase

## WSTĘP

Jednym z czynników prowadzących do wystąpienia porodu przedwczesnego jest przedwczesne pęknięcie pęcherza płodowego (*preterm rupture of membranes – PROM*). Dla prawidłowego funkcjonowania pęcherza owodniowego niezbędna jest prawidłowa stabilizacja macierzy zewnątrzkomórkowej błon płodowych. Główną składową macierzy zewnątrzkomórkowej błon płodowych jest kolagen. W celu zapewnienia rozciągliwości pęcherza owodniowego w zewnątrzkomórkowej macierzy błon płodowych znajdują się liczne włókna zbudowane z elastyny. Ponadto w obrębie macierzy zewnątrzkomórkowej błon płodowych znajdują się fibronektyny i laminina [1]. Ważną częścią macierzy zewnątrzkomórkowej błon płodowych warunkującą jej integralność są metalloproteinazy (MMP). Wyróżnia się następujące metalloproteinazy błon płodowych: gelatynazy (MMP-2 i MMP-9), stromylazy (MMP-3, MMP-7, MMP-10) [2].

Metalloproteinazy są enzymami o działaniu destrukcyjnym, dlatego w obrębie błon płodowych syntezowany jest tkankowy inhibitor – metalloproteinaza (TIMP) [3,4]. Metalloproteinazy odgrywają podstawową rolę w pęknięciu pęcherza płodowego zarówno przedwczesnym, jak i o czasie. Na aktywność metalloproteinaz mają wpływ mediatory stanu zapalnego, hormony oraz czynniki wzrostowe. Należy podkreślić, że najważniejsze znaczenie całego systemu metalloproteinaz to stabilizacja macierzy zewnątrzkomórkowej błon płodowych, która zapewnia ich integralność i zabezpiecza przed przedwczesnym odpływaniem płynu owodniowego. Profil zmian stężeń poszczególnych metalloproteinaz w płynie owodniowym w zależności od pęknięcia pęcherza płodowego przed i po 37. tygodniu trwania ciąży przedstawia tabela 1 [5]

Ponadto aktywację metalloproteinaz mogą indukować także reaktywne formy tlenu (*ROS-reactive oxygen species*), takie jak:  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $HO^-$ ,  $NO^-$ ,  $HOCl$ . [2,3]. Brak równowagi pomiędzy generacją ROS, a zdolnościami antyoksydacyjnymi organizmu określa się, jako stres oksydacyjny [6]. Działanie ROS może wywoływać uszkodzenia na poziomie molekularnym oraz tkan-

## INTRODUCTION

Preterm rupture of membranes (PROM) is one of the factors leading to preterm delivery. Appropriate stabilisation of the extracellular matrix of foetal membranes is necessary for correct function of the amniotic sac. The main component of membrane extracellular matrix is collagen. In order to ensure extensibility of the amniotic sac there are numerous fibres made of elastin incorporated in the extracellular matrix. Moreover the matrix contains also fibronectins and laminin [1]. An important part of the extracellular matrix of foetal membranes, ensuring its integrity, are metalloproteinases (MMP). There are the following metalloproteinases of foetal membranes: gelatinases (MMP-2 and MMP-9), stromelases (MMP-3, MMP-7, MMP-10) [2].

Metalloproteinases are destructive enzymes. Therefore a tissue inhibitor – metalloprotein (TIMP) – is synthesised in foetal membranes [3,4]. Metalloproteinases play a crucial role in rupture of the amniotic sac, both preterm and on-time. Activity of metalloproteinases is affected by inflammatory state mediators, hormones and growth factors. It should be underlined that the most important function of the whole metalloproteinase system is stabilisation of the extracellular matrix of foetal membranes, ensuring their integrity and protecting from preterm outflow of amniotic fluid. The profile of changes in levels of individual metalloproteinases in amniotic fluid, depending on rupture of membranes before and after the 37<sup>th</sup> week of pregnancy is presented in the Table 1 [5]

Moreover, metalloproteinase activation may be also induced by reactive oxygen species (ROS), including:  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $HO^-$ ,  $NO^-$ ,  $HOCl$ . [2,3]. Lack of equilibrium between generation of ROS and organism's antioxidative abilities is referred to as oxidative stress [6]. ROS may cause damage on molecular and tissue level. ROS may not only damage cellular components, but also participate in signal transmission, cell differentiation and apoptosis. Moreover, they may activate transcription factors: NF- $\kappa$ B and AP-1 via increased level of TNF-alpha and IL-1-beta [6].

kowym. ROS mogą nie tylko uszkadzać składniki komórki, ale również uczestniczyć w przenoszeniu sygnału, w różnicowaniu komórek i apoptozie. Ponadto mogą aktywować czynniki transkrypcyjne: NF- $\kappa$ B i AP-1 poprzez wzrost TNF- $\alpha$  oraz IL-1- $\beta$  [6].

## CEL PRACY

Celem pracy była ocena wybranych markerów stresu oksydacyjnego u kobiet ciężarnych rodzących przedwcześnie w mechanizmie PROM oraz rodzących o czasie w Klinice Położnictwa i Perinatologii UJ CM w okresie od 1 stycznia do 30 grudnia 2009 roku. Grupę pierwszą stanowiło 40. ciężarnych hospitalizowanych z powodu PROM, u których stwierdzono ujemny wynik wymazu mikrobiologicznego z kanału szyjki macicy oraz prawidłowe wartości leukocytozy i białka C-reaktywnego w celu wykluczenia infekcyjnego podłoża PROM. W celu zminimalizowania czynników zakłócających markery biochemiczne stresu oksydacyjnego wykluczono ciężarne, u których w przebiegu ciąży rozpoznano patologię, a w szczególności: nadciśnienie ciążowe i przewlekłe, cukrzycę oraz choroby tarczycy. Dodatkowo wykluczono kobiety palące tytoń. Do grupy kontrolnej włączono 40. ciężarnych, będących w pierwszym okresie porodu z odpływaniem płynu owodniowego i rodzących w terminie porodu. Podobnie, jak w grupie poprzedniej w celu zminimalizowania czynników zakłócających markery biochemiczne stresu oksydacyjnego wykluczono ciężarne, u których w przebiegu ciąży rozpoznano patologię, a w szczególności: nadciśnienie ciążowe i przewlekłe, cukrzycę oraz choroby tarczycy. Dodatkowo wykluczono również ciężarne palące tytoń oraz te, u których stwierdzono dodatni wynik wymazu z szyjki macicy w kierunku nosicielstwa paciorkowców grupy B (GBS). W celu analizy wybranych parametrów biochemicznych stresu oksydacyjnego oznaczono w surowicy krwi u pacjentek z poszczególnych grup następujące związki: dihydrazę ponadtlenkową (SOD), mieloperoksydazę (MPO), aldehyd malonowy (MDA), reduktazę glutationową

## OBJECTIVE

Assessment of selected markers of oxidative stress in pregnant women giving a preterm birth according to the PROM mechanism and in pregnant women giving birth on time in the Department of Obstetrics and Perinatology of the Jagiellonian University Collegium Medicum (CM UJ) from January 1<sup>st</sup> to December 30<sup>th</sup>, 2009 was the objective. The first group consisted of 40 pregnant women hospitalised because of PROM, with a negative results of microbiological cervical swab and normal values of leucocytosis and CRP, in order to exclude an infective origin of PROM. Pregnant women with a pathology confirmed during the pregnancy, namely: gestational and chronic hypertension, diabetes and thyroid diseases, were excluded to minimise the effect of factors affecting biochemical markers of the oxidative stress. Additionally, tobacco smoking women were excluded. The control group included 40 pregnant women on the first stage of labour with outflow of amniotic fluid and giving birth on term. Similarly to the first group, pregnant women with a pathology confirmed during the pregnancy, namely: gestational and chronic hypertension, diabetes and thyroid diseases, were excluded to minimise the effect of factors affecting biochemical markers of the oxidative stress. Additionally, smokers and women with a positive result of cervical swab for carrier status of group B streptococci (GBS) were excluded. The following compounds were determined in blood serum collected from patients in both groups, to analyse selected biochemical parameters of oxidative stress: superoxide dismutase (SOD), myeloperoxidase (MPO), malonic aldehyde (MDA), glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GPx), plasma total antioxidative status (TAS).

**Tab. 1.** Metaloproteinazy vs. PROM vs. poród o czasie

Metaloproteinaza	PROM	Pęknięcie pęcherza płodowego po 37. tygodniu ciąży
MMP-1	Wzrost	Spadek
MMP-2	Spadek	Spadek
MMP-7	Brak zmian	Brak zmian
MMP-8	Wzrost	Brak zmian
MMP-9	Wzrost	Wzrost

**Tab. 1.** Metalloproteinases vs. PROM vs. delivery on time

Metalloproteinase	PROM	Rupture of membranes after the 37 <sup>th</sup> week of pregnancy
MMP-1	Increase	Decrease
MMP-2	Decrease	Decrease
MMP-7	No change	No change
MMP-8	Increase	No change
MMP-9	Increase	Increase

(GR), peroksydazę glutationową (GPx), całkowitą zdolność antyoksydacyjną osocza (TAS).

Powyższych oznaczeń dokonano w grupach jednokrotnie podczas porodu. Analizę parametrów biochemicznych wykonano w Katedrze Fizjologii CM UJ oraz Zakładzie Diagnostyki Klinicznej CM UJ. Ocenę flory

The above mentioned determinations were performed once during the delivery. The analysis of biochemical parameters was completed at the Chair of Physiology CM UJ and at the Laboratory of Clinical Diagnostics CM UJ. Assessment of microbiological flora was completed at the Laboratory of Microbiology in the

**Tab. 2.** Markery stresu oksydacyjnego podczas porodu w badanych grupach

	Grupa kontrolna [n=40]	Grupa I [n=40]	
dysmutaza ponadtlenkowa (SOD) [nmol/ml] średnia, (SD)	85,1 (6,8)	145,4 (11,0)	$p^{K-B1} < 0,0001$
mieloperoksydaza (MPO) [nmol/ml] średnia, (SD)	110,1 (22,6)	227,2 (23,8)	$p^{K-B1} < 0,0001$
aldehyd malonowy (MDA) [nmol/ml] średnia, (SD)	89,1 (12,6)	150,8 (10,6)	$p^{K-B1} < 0,0001$
reduktaza glutationowa (GR) [U/l] średnia, (SD)	56,8 (5,5)	82,2 (5,1)	$p^{K-B1} < 0,0001$
peroksydaza glutationowa (GPx) [U/l] średnia, (SD)	278,4 (24,0)	376,8 (14,8)	$p^{K-B1} < 0,0001$
całkowita zdolność antyoksydacyjna osocza (TAS) [U/l] średnia, (SD)	0,96 (0,11)	0,51 (0,04)	$p^{K-B1} < 0,0001$

Test Kruskal-Wallis:  $p^{K-B1}$ -dla porównania grupy kontrolnej z grupą I.

**Tab. 2.** Oxidative stress markers during delivery in both groups of women

	Control group [n=40]	Group I [n=40]	
Superoxide dismutase (SOD) [nmol/mL] mean, (SD)	85,1 (6,8)	145,4 (11,0)	$p^{K-B1} < 0,0001$
myeloperoxidase (MPO) [nmol/mL] mean, (SD)	110,1 (22,6)	227,2 (23,8)	$p^{K-B1} < 0,0001$
Malonic aldehyde (MDA) [nmol/mL] mean, (SD)	89,1 (12,6)	150,8 (10,6)	$p^{K-B1} < 0,0001$
Glutathione reductase (GR) [U/L] mean, (SD)	56,8 (5,5)	82,2 (5,1)	$p^{K-B1} < 0,0001$
Glutathione peroxidase (GPx) [U/L] mean, (SD)	278,4 (24,0)	376,8 (14,8)	$p^{K-B1} < 0,0001$
Total antioxidative status (TAS) [U/L] mean, (SD)	0,96 (0,11)	0,51 (0,04)	$p^{K-B1} < 0,0001$

Kruskal-Wallis test:  $p^{K-B1}$ - for comparison between the control and study group I

mikrobiologicznej przeprowadzono w Zakładzie Mikrobiologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. Obliczenia statystyczne wykonano za pomocą pakietu Stata v.8.0. Za wyniki statystycznie istotne uznano te, dla których  $p < 0,05$ .

## WYNIKI

Oceniając dane demograficzne wykazano, że średni wiek kobiet ciężarnych z grupy badanej wyniósł 25,2 lat (zakres: 16-39), natomiast z grupy kontrolnej 26,3 lat (zakres: 16-42). Większość pacjentek z analizowanych grup zamieszkiwało miasto powyżej 100 000 mieszkańców (57.5% vs. 50%), co jest zgodne z lokalizacją i charakterystyką Kliniki Położnictwa i Perinatologii CM UJ, w której przeprowadzono badanie. W grupie badanej odsetek wieloródek wyniósł 65%, a w grupie kontrolnej 52%. Grupy nie różniły się pod względem częstości PROM w poprzedniej ciąży, która wyniosła 5%. Analizując sposób ukończenia poprzedniej ciąży stwierdzono, że znamienne częściej pacjentki z grupy badanej przeżyły poród drogami i siłami natury niż rozwiązywane były cięciem cesarskim w porównaniu do grupy kontrolnej (57.5% vs. 42.5%). Na podstawie analizy uzyskanych wyników, stwierdzono różnice pomiędzy grupami w liczbie przeżytych poronień – odsetek przeżytych poronień w grupie badanej wyniósł 10%, podczas gdy w grupie kontrolnej 5%.

Analizując zachowanie się markerów stresu oksydacyjnego podczas porodu zaobserwowano statystycznie istotne różnice pomiędzy wszystkimi markerami spośród analizowanych grup. Badając poziom dysmutazy nadtlenkowej, mieloperoksydazy, aldehydu malonowego, reduktazy glutationowej oraz peroksydazy glutationowej stwierdzano wyższe wartości tych markerów w grupie badanej. Wartości całkowitej zdolności antyoksydacyjnej osocza zachowywały się odwrotnie (tab.2).

Biorąc pod uwagę fakt, że na nasilenie stresu oksydacyjnego może mieć wpływ proces peroksydacji lipidów dodatkowo oceniono BMI u pacjentek z analizowanych grup. Wykazano, statystycznie znamienne różnice w wartościach BMI - pacjentki z grupy pierwszej miały podwyższony BMI pozwalający zaliczyć je do osób z nadwagą (tab.3).

University Hospital in Krakow. Statistical calculations were done with the Stata v.8.0 software. Results with  $p < 0.05$  were accepted as statistically significant.

## RESULTS

Analysis of demographic data indicated that the mean age of pregnant women in the study group was 25.2 years (range: 16-39), and in the control group 26.3 years (range: 16-42). Majority of patients in both groups lived in a city with a population over 100,000 (57.5% vs. 50%), which is consistent with the localisation and characteristics of the Department of Obstetrics and Perinatology CM UJ, where the study was realised. In the study group the ratio of multiparas was 65%, and in the control group 52%. The groups were not different in respect of incidence of PROM in the previous pregnancy. The incidence of PROM was 5%. Analysing the delivery method in previous pregnancy it was found out that patients in the study group significantly more commonly had given the previous birth spontaneously than by Caesarean cut, compared to the control group (57.5% vs. 42.5%). Based on the analysis of obtained results, existence of a difference between groups in respect to miscarriages was noted – the ratio of miscarriages in the study group was 10%, and in the control group 5%.

Analysing behaviour of oxidative stress markers during delivery some statistically significant differences in all markers between both groups were observed. Higher levels of superoxide dismutase, myeloperoxidase, malonic aldehyde, glutathione reductase and glutathione peroxidase were found in the study group. The value of a total antioxidative status demonstrated an opposite behaviour (Table 2).

Considering the fact that intensity of the oxidative stress may affect the process of lipid peroxidation, BMI of patients in both groups was assessed additionally. Some statistically significant differences in BMI values were found – patients in the study group had the increased BMI level, allowing defining them as overweight (Table 3).

**Tab. 3.** Wartości BMI w badanych grupach

	Grupa kontrolna [n=40]	Grupa I [n=40]	
BMI [kg/m <sup>2</sup> ] średnia, (SD)	23,3 (3,2)	28,2 (4,4)	$p^{K-BI} < 0,0001$

Test Kruskal-Wallis:  $p^{K-BI}$ -dla porównania grupy kontrolnej z grupą I.

**Tab. 3.** BMI values in both groups of women

	Control group [n=40]	Group I [n=40]	
BMI [kg/m <sup>2</sup> ] mean, (SD)	23,3 (3,2)	28,2 (4,4)	$p^{K-BI} < 0,0001$

Kruskal-Wallis test:  $p^{K-BI}$ - for comparison between the control and study group I

## DYSKUSJA

Zarówno S. Gupta i wsp., jak i PD. Wall i wsp. na podstawie przeglądu dostępnej literatury uważają, że brak równowagi oksydacyjnej w organizmie kobiety ciężarnej może prowadzić do ciężkich powikłań położniczych takich jak: poronienia nawykowe, poród przedwczesny, przedwczesne pęknięcie pęcherza płodowego [7,8]. Związek pomiędzy stresem oksydacyjnym a przedwczesnym pęknięciem pęcherza płodowego wykazali także M. Longini i wsp.[9]. W przeprowadzonym badaniu autorzy badali poziom izoprostanów (F2-IP) w przypadku przedwczesnego pęknięcia pęcherza płodowego oraz w grupie kontrolnej. Izoprostany są nową klasą naturalnych związków powstających *in vivo* w wyniku wolnorodnikowej peroksydacji wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Mogą służyć jako ilościowe markery oksydacyjnego uszkodzenia lipidów [9]. Związek nieprawidłowego BMI z nasileniem stresu oksydacyjnego pozostaje bezsporny, a produkty peroksydacji lipidowej znacznie modyfikują właściwości fizyczne błon komórkowych. Peroksydacja lipidów powoduje również zahamowanie aktywności niektórych enzymów błonowych i białek transportujących. Ostatecznie komórka traci integralność błon wewnątrzkomórkowych i błony plazmatycznej. Ciąża sprzyja procesowi peroksydacji lipidów poprzez zaburzenia gospodarki lipidów, do których dochodzi podczas jej przebiegu. Fakt wzrostu stężenia triglicerydów oraz cholesterolu w surowicy krwi wraz z rozwojem ciąży zaobserwowano już w 1934 roku [10]. Liczne publikacje wykazały, że w prawidłowo przebiegającej ciąży występuje około 100-200% wzrost triglicerydów, 50-60% wzrost cholesterolu całkowitego, 100% wzrost lipoprotein o małej gęstości (LDL) oraz nieznaczny kilkuprocentowy wzrost lipoprotein o wysokiej gęstości (HDL) w stosunku do poziomów przed ciążą. Mechanizm fizjologicznej hiperlipidemii w ciąży nie został jak dotąd poznany. Postuluje się, że za tym zjawiskiem stoją: wysoki poziom estrogenów, zjawisko insulinooporności oraz obniżenie aktywności lipazy lipoproteinowej [10]. Coraz więcej danych z badań klinicznych potwierdza rolę subklinicznego, przewlekłego stanu zapalnego w patogenezie powikłań związanych z nadmiernym indeksem masy ciała [11,12]. Tkanka tłuszczowa obecnie uważana jest za jeden z największych organów wydzielania wewnętrznego, produkujący substancje zwane adipokinami. Adipokiny działają w obrębie tkanki tłuszczowej oraz w narządach odległych. Z pośród adipokin najważniejsze dla etiopatogenezy przedwczesnego pęknięcia pęcherza płodowego są: TNF- $\alpha$  oraz interleukina-1-beta. W tkance tłuszczowej produkowana jest również leptyna [13]. W przypadku nieprawidłowego indeksu masy ciała z przerośniętych adipocytów uwalniane są w nadmiarze wolne kwasy tłuszczowe, które poprzez receptor na makrofagach stymulują wydzielanie TNF- $\alpha$ , który nasila lipolizę w obrębie tkanki tłuszczowej i potęguje uwalnianie wolnych kwasów tłuszczowych. Dodatkowo uwalniane są sub-

## DISCUSSION

Based on the review of available literature both S. Gupta et al., and PD. Wall et al. express their opinion that lack of the oxidative equilibrium in the organism of a pregnant woman may lead to severe obstetric complications, including recurrent miscarriages, preterm delivery, preterm rupture of membranes [7,8]. Existence of a correlation between oxidative stress and PROM was demonstrated also by M. Longini et al.[9]. In that study authors analysed the level of isoprostanes (F2-IP) in PROM and in a control group. Isoprostanes are a new class of natural compounds formed *in vivo* as a result of free-radical-mediated peroxidation of polyunsaturated fatty acids. They may be used as quantitative markers of oxidative lipid damage [9]. A correlation between abnormal BMI and intensified oxidative stress is clear, and products of lipid peroxidation significantly modify physical properties of plasmic membranes. Lipid peroxidation causes also inhibition of activity of some membrane enzymes and transport proteins. Finally, a cell losses integrity of its intracellular membranes and of the plasmic membrane. Pregnancy favours the process of lipid peroxidation causing disorders in lipid metabolism. The fact of increasing serum level of triglycerides and cholesterol with the course of pregnancy was observed already in 1934 [10]. Numerous publications demonstrated that physiological pregnancy is associated with a 100-200% increase in triglyceride level, 50-60% increase of total cholesterol, 100% increase of low density lipoproteins (LDL) and a small increase of high density lipoproteins (HDL) in relation to their pre-conception levels. The mechanism of physiological hyperlipidemia during pregnancy remains unclear. It is postulated that the phenomenon is associated with: high oestrogen level, insulin resistance and decreased activity of lipoprotein lipase [10]. Expanding body of evidence confirms the role of a subclinical, chronic inflammatory condition in pathogenesis of complications associated with excessive BMI [11,12]. The adipose tissue is currently believed to be one of the largest endocrine organs, producing substances called adipokines. Adipokines act within the adipose tissue and in remote sites. The most important adipokines participating in ethiopathogenesis of PROM are: TNF- $\alpha$  and interleukin-1-beta. Leptin is also produced in the adipose tissue [13]. In case of abnormal BMI, hypertrophic adipocytes release excessive amounts of free fatty acids that act on receptors on macrophages and stimulate secretion of TNF- $\alpha$ . That compound, in turn, causes intensification of lipolysis within the adipose tissue and increases release of free fatty acids. Haemotactic substances for lymphocytes and monocytes are additionally released, causing initiation of the inflammatory condition and increase of inflammatory state mediators, including: CRP, interleukin-1-beta, interferon-gamma. Moreover, hyperlepaemia is associated with intensified inflammatory response and activation of macrophages. And that may potentially intensify the

stancje hemotaktyczne dla limfocytów i monocytów, co powoduje inicjację stanu zapalnego i wzrost poziomu mediatorów stanu zapalnego np.: białka C-reaktywne-go, Interleukiny-1-beta, interferonu-gamma. Ponadto hiperleptynemia wiąże się z nasiloną odpowiedzią zapalną, aktywacją makrofagów, co potencjalnie nasila odczyn zapalny [14]. Aktywne składowe tkanki tłuszczowej utrwalają napływ kolejnych komórek stanu zapalnego, wytwarzanie prozapalnych cytokin, co prowadzi do narastającej i uogólnionej odpowiedzi zapalnej. Należy sądzić, że związek nadmiernej ilości tkanki tłuszczowej z przewlekłym stanem zapalnym istnieje i może mieć istotny wpływ na nieprawidłowy przebieg ciąży w aspekcie przedwczesnego odpływania płynu owodniowego u kobiet ciężarnych z nieprawidłowym, nadmiernym BMI. Powyższe założenia zostały potwierdzone w przeprowadzonym badaniu wyższymi wartościami markerów stresu oksydacyjnego oraz obniżeniem całkowitej zdolności antyoksydacyjnej osocza u pacjentek z podwyższonym indeksem masy ciała i przedwczesnym odpływaniem płynu owodniowego bez czynnika infekcyjnego w porównaniu do ciężarnych rodzących o czasie.

## WNIOSKI

Istnieje potencjalny związek pomiędzy nieprawidłowym BMI, wyższymi wartościami markerów stresu oksydacyjnego a przedwczesnym odpływaniem płynu owodniowego bez udziału czynnika infekcyjnego.

inflammatory reaction [14]. Active components of the adipose tissue maintain inflow of further inflammatory cells, favour production of pro-inflammatory cytokines, which leads to growing and systemic inflammatory response. It may be assumed that there is an association between the excessive volume of the adipose tissue and chronic inflammatory condition, and that the association may have a significant effect on abnormal course of pregnancy in the aspect of preterm outflow of amniotic fluid in pregnant women with increased BMI. The above assumptions were confirmed in this study by determination of higher values of oxidative stress markers and reduced total antioxidative status in patients with increased BMI and PROT, in absence of an infective factor, compared to pregnant women giving birth on term.

## CONCLUSIONS

There is a potential association between abnormal BMI, higher values of oxidative stress markers and preterm outflow of amniotic fluid in absence of an infective factor.

### Piśmiennictwo / References:

1. **Greenwood G.** The extracellular matrix of the human fetal membranes: structure and function. *Placenta* 1998; 19:1-11.
2. **Birkedal-Hansen H, Moore W, Bodden M, Windsor L.** Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993;4:197-250.
3. **Matrisian G, Cockett M, Ward R, Docherty A.** Metalloproteinases and their inhibitors in matrix remodeling. *Trends Genet* 1990;6:121-25.
4. **Visse R, Nagase H.** Matrix Metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Cir Res* 2003;92:827-39.
5. **Murphy G, Stanton H, Cowell S et al.** Mechanism for pro matrix metalloproteinase activation. *APMIS* 1999; 107:38-44.
6. **Kulbacka J, Saczko J, Chwilkowska A.** Stres oksydacyjny w procesach uszkodzenia komórek. *Pol Merk Lek* 2009, XXVII, 157:44-47.
7. **Gupta S, Agarwal A, Banerjee J, Alvarez JG.** The role of oxidative stress in spontaneous abortion and recent pregnancy loss: a systematic review. *Obstet Gynecol Surv* 2007;62(5):335-47.
8. **Wall PD, Pressman EK, Woods JR.** Preterm premature rupture of the membranes and antioxidants: the free radical connection. *J Perinat Med* 2002;30(6):447-57.
9. **Longini M, Perrone S, Vezzosi P et al.** Association between oxidative stress in pregnancy and Preterm premature rupture of membranes. *Clin Biochem* 2007; 40:793-97.
10. **Tykowski A, Szczepaniak-Chichel L, Kornacki J, Bręborowicz GH.** Nadciśnienie tętnicze u kobiet w ciąży. W: Bręborowicz GH (red.) Cięża wysokiego ryzyka. Ośrodek Wydawnictw Naukowych. Poznań 2006:897-931.
11. **Kanadys WM, Leszczyńska-Gorzela B, Oleszczuk J.** Otyłość u kobiet – aspekty kliniczne. Zaburzenia metaboliczne. W: Leszczyńska-Gorzela B, Oleszczuk J (red). Zespół metaboliczny u kobiet – problem interdyscyplinarny. Lublin 2010:75-86.
12. **Zeyda M, Stuling TM.** Obesity, inflammation, and insulin resistance – a mini-review. *Gerontology* 2009; 55: 379-86.
13. **Michalak M, Poniedziałek-Czajkowska E, Michalowska A et al.** Adipokiny i ich rola w medycynie perinatalnej. W: Leszczyńska-Gorzela B, Oleszczuk J (red). Zespół metaboliczny u kobiet – problem interdyscyplinarny. Lublin 2010:123-136.
14. **Lyon C, Law R, Hsueh W.** Adiposity, inflammation, and atherogenesis. *Endocrinology* 2003;144(6):2195-200.