

# Stężenie wybranych cytokin u kobiet z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych i porodem przedwczesnym – badanie wstępne

Concentration of selected cytokines in women with premature rupture of membranes and preterm delivery – preliminary study

Seremak-Mrozikiewicz Agnieszka<sup>1</sup>, Lorenc Anna<sup>1</sup>, Barlik Magdalena<sup>1</sup>, Łukaszewski Tomasz<sup>1</sup>, Sieroszewski Piotr<sup>2</sup>, Kraśnik Witold<sup>3</sup>, Drews Krzysztof<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinika Perinatologii i Chorób Kobiety, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Polska

<sup>2</sup> Klinika Medycyny Płodowej i Ginekologii I Katedry Ginekologii i Położnictwa, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska

<sup>3</sup> Studenckie Towarzystwo Naukowe przy Klinice Perinatologii i Chorób Kobiety, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Polska

## Streszczenie

**Wstęp:** Od dawna zwraca się uwagę na możliwą rolę cytokin w etiologii porodu przedwczesnego (PTD – preterm delivery) w połączeniu z przewidywaniem czasu wystąpienia porodu u kobiet z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych (PROM – premature rupture of membranes). Jednocześnie jednak brakuje wytycznych pozwalających zastosować te obserwacje w praktyce klinicznej.

**Cel pracy:** Celem pracy było określenie stężenia interleukiny-6 (IL-6 – interleukin-6), czynnika martwicy nowotworów  $\alpha$  (TNF- $\alpha$  – tumor necrosis factor- $\alpha$ ), czynnika stymulującego wzrost kolonii G (G-CSF – G-colony stimulating factor G-CSF) w surowicy krwi kobiet z PROM w zależności od czasu wystąpienia porodu.

**Materiał i metodyka:** Analizowano 35 pacjentek z PROM (średni wiek 29,6 $\pm$ 3,8 lat, średni czas trwania ciąży 35,2 $\pm$ 1,5 tyg.). Ciężarne podzielono na 2 podgrupy: 15 kobiet, u których poród wystąpił  $\leq$ 24h oraz 20 kobiet, u których poród odbył się >24h od momentu wystąpienia PROM. W obydwu analizowanych podgrupach porównano wartości oznaczeń w surowicy IL-6, TNF- $\alpha$ , G-CSF, CRP oraz leukocytozy. Pomiar stężenia IL-6, TNF- $\alpha$  oraz G-CSF w surowicy krwi wykonano za pomocą metody immunoenzymatycznej ELISA, stężenie CRP oznaczano metodą immunoturbidymetryczną.

**Wyniki:** W całej badanej grupie kobiet z PROM zaobserwowano różnice w średnim stężeniu w surowicy krwi IL-6 przed i po porodzie (6,01 $\pm$ 3,71 pg/mL oraz 7,98 $\pm$ 3,44 pg/mL,  $p<0,05$ ) oraz G-CSF (130,92 $\pm$ 110,32 pg/mL oraz 79,59 $\pm$ 52,13 pg/mL,  $p<0,05$ ). Natomiast średnie stężenie TNF- $\alpha$  przed i po porodzie wynosiło odpowiednio 1,43 $\pm$ 0,63 pg/mL oraz 1,72 $\pm$ 1,06 pg/mL ( $p>0,05$ ). Uwagę zwraca fakt wyższego stężenia G-CSF u kobiet, które urodziły w ciągu 24h od pęknięcia błon płodowych (147,05 $\pm$ 103,88 pg/mL) w porównaniu do kobiet, które urodziły po 24h od momentu PROM (118,81 $\pm$ 115,71 pg/mL, statystycznie nieistotne  $p>0,05$ ).

## Adres do korespondencji:

Agnieszka Seremak-Mrozikiewicz  
Klinika Perinatologii i Chorób Kobiety UM w Poznaniu  
Polska, 60-535 Poznań, Polna 33.  
tel. 0618419613, fax: 0618474651  
e-mail: asm@data.pl

Otrzymano: 30.03.2011  
Zaakceptowano do druku: 20.07.2011

Taka sama obserwacja dotyczyła różnicy w stężeniu IL-6 w analogicznych grupach kobiet ( $6,42 \pm 4,14 \text{ pg/mL}$  vs  $5,71 \pm 3,42 \text{ pg/mL}$ ,  $p > 0,05$ ). Ciekawą obserwacją było odnotowanie statystycznie istotnych różnic w stężeniu G-CSF przed i po porodzie ( $147,06 \pm 103,88$  vs  $74,67 \pm 46,84$ ,  $p < 0,05$ ) w przypadku porodu  $\leq 24\text{h}$  od momentu PROM, jak również w stężeniu IL-6 ( $5,71 \pm 3,42$  vs  $8,11 \pm 3,41$ ,  $p < 0,05$ ) w przypadku porodu  $> 24\text{h}$  od momentu PROM.

**Wnioski:** Statystycznie istotne różnice w stężeniu IL-6, G-CSF i CRP przed oraz po porodzie sugerują udział tych czynników w etiologii porodu przedwczesnego u ciężarnych z PROM. Odnotowane wyższe stężenie IL-6 oraz G-CSF w grupie kobiet, u których poród odbył się do 24h po wystąpieniu PROM sugeruje, że cytokiny te mogą być ściśle włączone w procesy prowadzące do wystąpienia porodu. Istotne statystycznie różnice w stężeniu IL-6 oraz G-CSF przed i po porodzie w grupach kobiet, u których poród odbył się  $\leq 24\text{h}$  oraz  $> 24\text{h}$  mogą wskazywać na znaczący udział wzajemnych zmian w stosunku tych cytokin w etiologii PTD w przypadku wystąpienia PROM.

Słowa kluczowe: **przedwczesne pęknięcie błon płodowych / poród przedwczesny / cytokiny /**

## Summary

**Introduction:** For years much attention has been paid to the possible role of cytokines in the etiology of preterm delivery (PTD) in relation to anticipation of delivery in women with premature rupture of membranes (PROM). There are no clear indications introducing this observation to clinical practice.

The goal of this study was to evaluate interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), G-colony stimulating factor (G-CSF) concentration in serum of women with PROM in connection with the occurrence of the delivery.

**Material and methods:** 35 patients with PROM (average age  $29.6 \pm 3.8$  years, average time of gestation  $35.2 \pm 1.5$  weeks) were analyzed. The pregnant women were divided into 2 groups: 15 women delivered  $\leq 24\text{h}$  and 20 women delivered  $> 24\text{h}$  since the appearance of PROM. In both analyzed subgroups, the levels of IL-6, TNF- $\alpha$ , G-CSF, CRP and leucocytosis have been compared. The concentration of IL-6, TNF- $\alpha$  and G-CSF in serum was measured by immunoenzymatic ELISA method, CRP concentration by immunoturbimetric method.

**Results:** In the whole group of women with PROM, the differences in average serum concentration of IL-6 before and after delivery ( $6.01 \pm 3.71 \text{ pg/mL}$  and  $7.98 \pm 3.44 \text{ pg/mL}$   $p < 0.05$ ) and G-CSF ( $130.92 \pm 110.32 \text{ pg/mL}$  and  $79.59 \pm 52.13 \text{ pg/mL}$ ,  $p < 0.05$ ) have been observed. Moreover, average TNF- $\alpha$  concentration before and after the delivery was  $1.43 \pm 0.63 \text{ pg/mL}$  and  $1.72 \pm 1.06 \text{ pg/mL}$  ( $p > 0.05$ ), respectively.

It is particularly interesting that the authors have observed higher concentration of G-CSF in women who delivered within 24h since PROM ( $147.05 \pm 103.88 \text{ pg/mL}$ ), if compared to the women who delivered after 24h since PROM ( $118.81 \pm 115.71 \text{ pg/mL}$ , without statistically significant difference  $p > 0.05$ ). The same remark was connected with difference of IL-6 concentration in analogical groups of women ( $6.42 \pm 4.14 \text{ pg/mL}$  vs  $5.71 \pm 3.42 \text{ pg/mL}$ ,  $p > 0.05$ ).

Equally interesting observation were statistically significant differences in G-CSF concentration before and after delivery ( $147.06 \pm 103.88$  vs  $74.67 \pm 46.84$ ,  $p < 0.05$ ) in the event of the delivery  $\leq 24\text{h}$  since PROM, such as in IL-6 concentration ( $5.71 \pm 3.42$  vs  $8.11 \pm 3.41$ ,  $p < 0.05$ ) in case of the delivery  $> 24\text{h}$  since PROM.

**Conclusions:** Statistically significant differences in IL-6, G-CSF, and CRP concentration before and after the delivery suggest the participation of these factors in the etiology of preterm delivery in women with PROM. The higher IL-6 and G-CSF concentration in women delivering within 24h since the appearance of PROM suggest that these cytokines could be involved in the processes leading to delivery. Statistically significant differences in IL-6 and G-CSF concentration before and after the delivery in a group of women delivering  $\leq 24\text{h}$  or  $> 24\text{h}$  could indicate an important contribution of changes in proportions of these cytokines in PTD the etiology in PROM.

Key words: **premature rupture of membranes / preterm delivery / cytokines /**

## Wstęp

Poród przedwczesny (PTD – *preterm delivery*) jest jednym z największych wyzwań dla współczesnej medycyny perinatalnej. Mimo znaczącego postępu w opiece nad kobietą ciężarną częstość PTD od kilkudziesięciu lat utrzymuje się na stałym poziomie [1]. Szacuje się, że rocznie na świecie rodzi się przedwcześnie około 13 milionów dzieci. W Europie odsetek PTD stanowi ok. 6% wszystkich porodów, natomiast w USA od kilku lat utrzymuje się na poziomie około 11-12%. W krajach najbiedniejszych procent tego powikłania jest najwyższy [2, 3].

Komplikacje będące konsekwencją wcześniactwa stanowią wiodącą bezpośrednią przyczynę śmiertelności noworodków na świecie i są odpowiedzialne za 27% spośród 4 mln zgonów noworodków rocznie, a także stanowią istotny czynnik ryzyka zgonu z powodu innych przyczyn, m.in. infekcji [4, 5].

Ostatnie badania sugerują wieloczynnikowy charakter PTD, obejmujący zarówno udział czynników hormonalnych, genetycznych, jak i środowiskowych [6, 7]. Istnieją również liczne dowody naukowe wskazujące na rolę infekcji oraz odpowiedzi zapalnej organizmu ciężarnej w patogenezie tego zjawiska [5, 7].

Makrofagi obecne w tkankach macicznych, płodowych i łożyskowych aktywowane przez produkty metabolizmu bakterii uwalniają szereg cytokin: interleukiny IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 i czynnik nekrotyzujący nowotworów alfa (TNF- $\alpha$ ), czynnik stymulujący wzrost kolonii G (G-CSF – *G-colony stimulating factor*) [1, 7]. IL-1 łącznie z TNF- $\alpha$  i IL-6 stymulują produkcję prostaglandyn przez owodnię, kosmówkę i doczesną, co może prowadzić do wyzwolenia czynności skurczowej macicy.

Cytokiny wykazują również działanie stymulujące kolagenazy zarówno w szyjce macicy, jak i błonach płodowych. Modyfikacja właściwości kolagenu i glikazaminoglikanów w szyjce macicy skutkuje jej dojrzewaniem, co stanowi niezbędny warunek porodu zarówno o czasie, jak i przedwczesnego. Cytokiny mogą mieć również wpływ na przedwczesne pęknięcie błon płodowych, w czym istotną rolę spełniają kolagenazy oraz inhibitory tkankowe regulujące ich aktywność. Istotny udział w mechanizmie pęknięcia błon płodowych pełnią metaloproteiny MMP-1, MMP-2 i MMP-9, które degradują kolagen typu I, II, III, IV, V, VII, X oraz elastyny [1, 2, 7].

W prognozowaniu czasu wystąpienia porodu u kobiet z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych (PROM - *premature rupture of membranes*) od dawna wskazuje się na dużą przydatność markerów biochemicznych oznaczanych z surowicy krwi ciężarnych, krwi pępowinowej, śluzu szyjkowego, jak również z płynu owodniowego [8]. Oczekuje się, że oznaczanie tych czynników pomoże w przewidywaniu czasu wystąpienia PTD.

## Cel pracy

Celem pracy było określenie stężenia IL-6, TNF- $\alpha$ , G-CSF w surowicy krwi kobiet z PROM w zależności od czasu wystąpienia porodu.

## Materiał i metody

### Material

W pracy analizowano 35 pacjentek (średni wiek  $29,6 \pm 3,8$  lat, średni czas trwania ciąży  $35,2 \pm 1,5$  tyg.), u których w przebiegu ciąży wystąpiło przedwczesne pęknięcie błon płodowych.

Czas trwania ciąży obliczano na podstawie daty ostatniej miesiączki oraz badania ultrasonograficznego w I trymestrze. Szczegółowe dane kliniczne dotyczące grupy badanej przedstawiono w tabeli I.

W przeprowadzanym badaniu ciężarne zostały podzielone na 2 podgrupy: 15 kobiet, u których poród wystąpił w ciągu 24h od pęknięcia błon płodowych oraz 20 kobiet, u których poród wystąpił powyżej 24h od pęknięcia błon płodowych.

W obydwu analizowanych podgrupach porównano wartości oznaczeń w surowicy IL-6, TNF- $\alpha$ , G-CSF, CRP oraz leukocytozy. Analizowano również czas jaki upłynął od momentu pęknięcia błon płodowych do wystąpienia porodu w obydwu grupach. Następnie oceniano stan ogólny pacjentki (temperatura ciała, ciśnienie tętnicze, tętno) i analizowano badania laboratoryjne, jak morfologię krwi oraz stężenie CRP celem ewentualnej oceny rozwoju zakażenia wewnątrzrodniowego. Ponadto odnotowywano częstotliwość skurczów macicy, wykonano badanie ultrasonograficzne oraz zapisy kardiograficzne. Badania te były powtarzane regularnie.

Z badania zostały wyłączone pacjentki z ciążą wielopłodową, współistniejącymi chorobami ciężarnej (stan przedrzucawkowy, infekcja układu moczowego, choroby przewlekłe), a także

Tabela I. Dane kliniczne pacjentek z grupy badanej.

|                                   | Ogółem<br>n = 35 |
|-----------------------------------|------------------|
| <b>wiek (lata)</b>                |                  |
| średnia ( $\pm$ SD)               | $29,6 \pm 3,8$   |
| mediana                           | 29               |
| min - max                         | 21-42            |
| <b>tydz. zakończenia ciąży</b>    |                  |
| średnia ( $\pm$ SD)               | $35,2 \pm 1,45$  |
| mediana                           | 35,86            |
| min - max                         | 31,1-36,8        |
| <b>czas od PROM(dni)</b>          |                  |
| średnia ( $\pm$ SD)               | $3,6 \pm 4,7$    |
| mediana                           | 2,0              |
| min - max                         | 1,0-21,0         |
| <b>wywiad położniczy</b>          |                  |
| pierwiastki i nieródki            | 22               |
| wieloródki                        | 13               |
| <b>sposób zakończenia ciąży</b>   |                  |
| PSN – poród siłami natury         | 25               |
| CC – poród przez cięcie cesarskie | 10               |
| <b>przyjmowanie antybiotyków</b>  |                  |
| tak                               | 24               |
| nie                               | 11               |

stwierdzanymi w badaniu ultrasonograficznym wadami płodu.

Poród rozpoznawano na podstawie występowania regularnej czynności skurczowej co 10 min. potwierdzonej zapisem kardiograficznym oraz stwierdzeniem rozwierania się szyjki macicy w badaniu ginekologicznym. Poród przedwczesny rozpoznawano w przypadku wystąpienia powyższych objawów od 22+0 do 36+6 t.c.

Wszystkie pacjentki zostały poinformowane o celu, zakresie badania i wyraziły pisemną zgodę na swój udział. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej UM w Poznaniu 103/10.

### Metodyka

Celem oznaczenia wybranych cytokin krew żylną po pobraniu od pacjentek odwirowywano, a następnie zebrane surowice przechowywano w temperaturze minus 70°C. Pomiar stężenia IL-6, TNF- $\alpha$  oraz G-CSF wykonano za pomocą metody immunoenzymatycznej ELISA (R&D Systems, USA). Natomiast pomiar stężenia CRP w surowicy krwi przeprowadzano przy wykorzystaniu metody immunoturbidymetrycznej (Behring Turbidimeter, Niemcy). W pracy wykorzystano oznaczenia laboratoryjne wymienionych parametrów biochemicznych wykonane w przedziale czasowym 24-48 h przed porodem oraz 24-48 h po porodzie. U wszystkich pacjentek na podstawie wywiadu wykluczona została także obecność innych infekcji mogących wpływać na podwyższenie stężenia CRP i wartości leukocytozy u matki.

W przypadku zagrożenia porodem przedwczesnym <34 t.c. podawano ciężarnym glikokortykosteroidy (Betametazon 12 mg domięśniowo dwukrotnie w odstępach 12 lub 24h) celem przyspieszenia dojrzewania płuc płodu.

**Tabela II.** Porównanie średnich wartości badanych cytokin (IL-6, TNF- $\alpha$ , G-CSF), CRP oraz leukocytozy w grupie kobiet z PROM przed i po porodzie.

| Cytokiny                                                                                | I badanie<br>(1 dzień przed porodem)         | II badanie<br>(2 dni po porodzie)          | p                     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------|-----------------------|
|                                                                                         | n=35                                         | n=35                                       |                       |
| <b>IL-6 [pg/mL]</b><br>średnia ( $\pm$ SD)<br>mediana<br>min. – max.                    | 6,01 $\pm$ 3,71<br>4,84<br>1,29–11,91        | 7,98 $\pm$ 3,44<br>8,48<br>1,83–12,01      | <b>p = 0,025*</b>     |
| <b>TNF-<math>\alpha</math> [pg/mL]</b><br>średnia ( $\pm$ SD)<br>mediana<br>min. – max. | 1,43 $\pm$ 0,63<br>1,33<br>0,83–4,49         | 1,72 $\pm$ 1,06<br>1,45<br>0,65–5,55       | p = 0,163             |
| <b>G-CSF [pg/mL]</b><br>średnia ( $\pm$ SD)<br>mediana<br>min. – max.                   | 130,92 $\pm$ 110,13<br>90,69<br>40,08–546,95 | 79,59 $\pm$ 52,13<br>65,12<br>11,33–231,60 | <b>p = 0,015*</b>     |
| <b>CRP [mg/L]</b><br>średnia ( $\pm$ SD)<br>mediana<br>min. – max.                      | 4,55 $\pm$ 4,79<br>3,12<br>1,15–23,24        | 45,26 $\pm$ 43,47<br>31,14<br>1,55–223,40  | <b>p &lt; 0,0001*</b> |
| <b>Leukocyty [tys./mm<sup>3</sup>]</b><br>średnia ( $\pm$ SD)<br>mediana<br>min. – max. | 11,86 $\pm$ 3,52<br>11,00<br>7,00–20,00      | 16,65 $\pm$ 6,60<br>15,31<br>8,16–34,76    | <b>p &lt; 0,0001*</b> |

IL-6 – interleukina-6

TNF- $\alpha$  – czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$ 

G-CSF – czynnik stymulujący wzrost kolonii G

CRP – białko C-reaktywne

\* – statystycznie istotne

Wdrażano również profilaktykę śródporodową zakażenia paciorkowcem  $\beta$ -hemolizującym (GBS) zgodnie z najnowszymi wytycznymi Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego.

#### Analiza statystyczna

Do analizy statystycznej zastosowano program SPSS 13.0, za istotne statystycznie przyjęto wartość  $p < 0,05$ . Średnie parametry badanych czynników prozapalnych pomiędzy grupami oraz przed i po porodzie porównywano testem jednoczynnikowym ANOVA.

#### Wyniki

##### Analiza danych klinicznych

Wśród badanych ciężarnych było 22 pierwiastek i 13 wieloródek. Porodem drogami natury zakończyło się 25 ciąż, natomiast 10 ciąż rozwiązano drogą cięcia cesarskiego (wskazania: wcześniactwo, objawy zagrożenia życia płodu, położenie miednicowe płodu). Antybiotykoterapię stosowano u 24 z 35 badanych pacjentek. Średni czas jaki upłynął od momentu pęknięcia błon płodowych do porodu wyniósł 3,6 $\pm$ 4,7 dni (mediana 2 dni).

##### Analiza stężenia czynników prozapalnych

W całej badanych grupie kobiet z PROM średnie stężenie IL-6 oraz G-CSF przed porodem w surowicy krwi wynosiło 6,01 $\pm$ 3,71 pg/mL oraz 130,92 $\pm$ 110,32 pg/mL.

Natomiast średnie stężenie IL-6 oraz G-CSF po porodzie w surowicy krwi wynosiło odpowiednio 7,98 $\pm$ 3,44pg/mL oraz 79,59 $\pm$ 52,13pg/mL. Odnotowano statystycznie istotne różnice pomiędzy stężeniem obydwu badanych cytokin przed i po porodzie ( $p < 0,05$ ). (Rycina 1 i 2, tabela II).

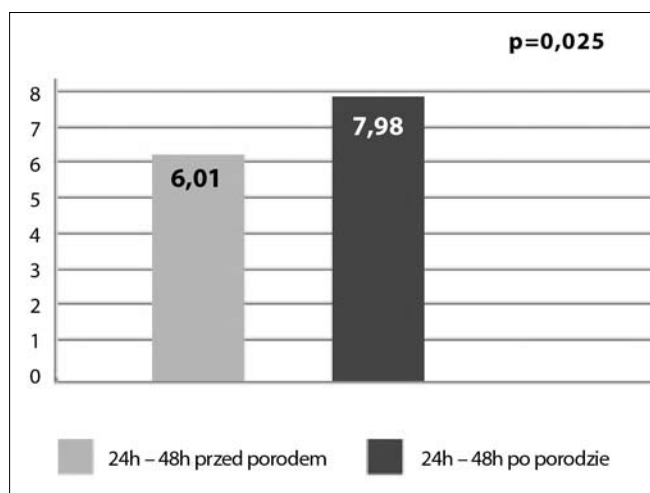
Średnie stężenie TNF- $\alpha$  przed porodem w surowicy krwi wynosiło 1,43 $\pm$ 0,63pg/mL, natomiast po porodzie 1,72 $\pm$ 1,06pg/mL. W badaniu nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic przy porównaniu stężenia TNF- $\alpha$  przed i po porodzie ( $p > 0,05$ ). (Rycina 3, tabela II).

Odnotowano natomiast znacznie wyższe stężenie CRP (45,26 $\pm$ 43,47 vs 4,55 $\pm$ 4,79mg/L przed porodem,  $p < 0,0001$ ) oraz wyższe wartości leukocytozy (16,65 $\pm$ 6,60 vs 11,86 $\pm$ 3,52 tys./mm<sup>3</sup> przed porodem) po porodzie w badanej grupie kobiet z PROM. (Tabela II).

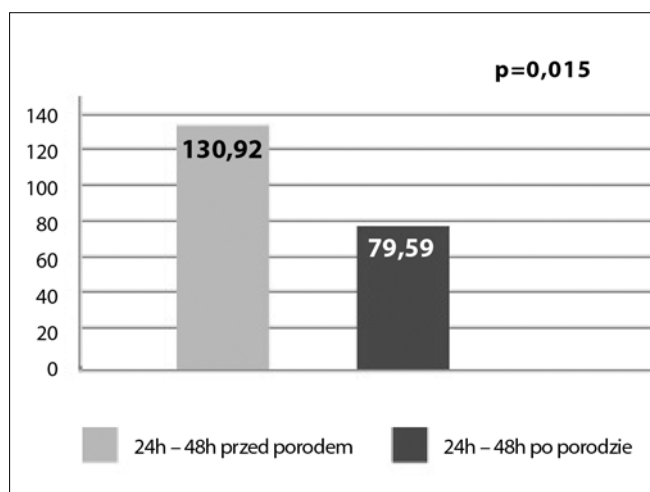
W czasie analizy otrzymanych wyników stwierdzono różnice pomiędzy średnią wartością stężenia poszczególnych cytokin a długością okresu od pęknięcia błon płodowych do porodu. (Tabela III).

W grupie ciężarnych, które urodziły w ciągu pierwszych 24h od pęknięcia błon płodowych średnie wartości IL-6, TNF- $\alpha$  oraz G-CSF wynosiły odpowiednio 6,42 $\pm$ 4,14pg/mL, 1,30 $\pm$ 0,30pg/mL oraz 147,05 $\pm$ 103,88 pg/mL, różnica statystyczna była jednak nieistotna ( $p > 0,05$ ). Natomiast wśród kobiet, które urodziły po 24h od momentu pęknięcia błon płodowych średnie wartości badanych cytokin (IL-6, TNF- $\alpha$ , G-CSF) wynosiły odpowiednio 5,71 $\pm$ 3,42pg/mL, 1,53 $\pm$ 0,80pg/mL oraz 118,81 $\pm$ 115,71pg/mL (brak różnic statystycznie istotnych,  $p > 0,05$ ). (Rycina 4).

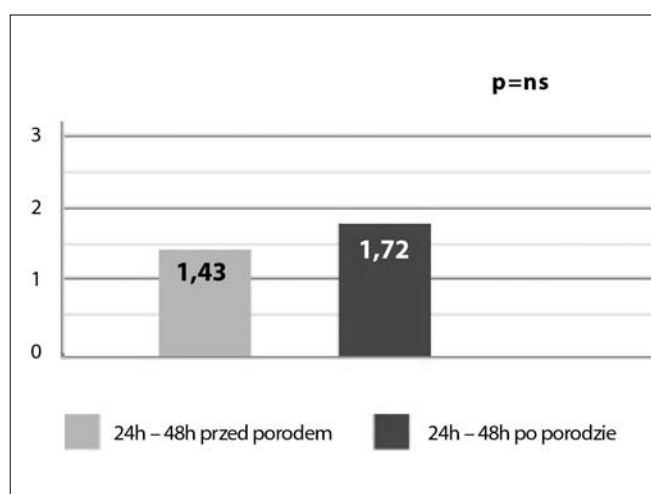
Stężenie wybranych cytokin w kobiet z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych i porodem przedwczesnym...



**Rycina 1.** Stężenie IL-6 [pg/mL] w surowicy krwi ciężarnych przed i po porodzie.



**Rycina 2.** Stężenie G-CSF [pg/mL] w surowicy krwi ciężarnych przed i po porodzie.



**Rycina 3.** Stężenie TNF-α [pg/mL] w surowicy krwi ciężarnych przed i po porodzie.

Również obserwowane stężenie CRP było wyższe w grupie kobiet, które urodziły po 24h od wystąpienia PROM ( $45,28 \pm 53,46$  vs  $37,82 \pm 28,41$  mg/L, statystycznie nieistotne  $p=0,628$ ). (Tabela III).

Porównywano również wartości średnie badanych cytokin przed i po porodzie w grupach kobiet, u których poród odbył się  $\leq 24$ h oraz  $>24$ h od momentu PROM. Odnotowano statystycznie istotne różnice w stężeniu G-CSF ( $147,06 \pm 103,88$  vs  $74,67 \pm 46,84$ ,  $p<0,05$ ) w przypadku porodu  $\leq 24$ h od momentu PROM, jak również statystycznie istotne różnice w stężeniu IL-6 ( $5,71 \pm 3,42$  vs  $8,11 \pm 3,41$ ,  $p<0,05$ ) w przypadku porodu  $>24$ h od momentu PROM. (Tabela IV i V).

## Dyskusja

W ostatnich latach coraz częściej zwraca się uwagę na znaczenie układu cytokin w etiologii porodu przedwczesnego i przedwczesnego pęknięcia błon płodowych. Najczęściej oznaczaną jest IL-6, wydzielana w przebiegu zakażenia wewnątrzmacicznego, uważana przez niektórych badaczy za najbardziej czuły wskaźnik inwazji patogenów do jamy owodniowej (przy punkcie odcięcia  $6,7$  pg/ml czułość metody określa się na  $94,5\%$ , specyficzność  $92,3\%$  – z dużą wartością predykcyjną).

Wzrost IL-6 poprzedza o kilkadziesiąt godzin wzrost białka C-reaktywnego (CRP – *C-reactive protein*) [9]. Oznaczanie stężenia IL-6, jak i innych cytokin, nie jest jednak rutynowo przeprowadzane z uwagi na brak dostępności odpowiednich testów w większości centrów medycznych.

W naszej pracy stwierdzono istotne statystycznie różnice przed i po porodzie w stężeniu IL-6 ( $6,01$  vs  $7,98$  pg/mL,  $p<0,05$ ) oraz G-CSF ( $130,92$  vs  $79,59$  pg/mL,  $p<0,05$ ). Również zaobserwowane stężenie TNF-α było nieco wyższe po porodzie ( $1,43$  vs  $1,72$  pg/mL), chociaż różnice te nie były statystycznie istotne ( $p>0,05$ ).

Ciekawą również jest obserwacja statystycznie istotnej różnicy w stężeniu CRP w grupie kobiet przed i po porodzie przedwczesnym ( $4,55$  vs  $45,26$  mg/L). Obserwacje te potwierdzają sugerowany w wielu publikacjach fakt ścisłego udziału siatki cytokin i białek ostrej fazy w inicjacji procesu porodu, zarówno przedwczesnego, jak i porodu o czasie. Jednocześnie w naszym badaniu odnotowano wyższe stężenie IL-6 ( $6,42$  vs  $5,71$  pg/mL) oraz szczególnie G-CSF ( $147,05$  vs  $118,81$  pg/mL) w grupie kobiet, u których poród odbył się do 24h od momentu wystąpienia PROM w porównaniu do kobiet, u których poród wystąpił powyżej 24h (brak różnic statystycznie znaczących). Mimo braku różnic statystycznie znaczących obserwacja ta może sugerować znaczny udział tych cytokin w przypadku porodów przebiegających dynamicznie i szybko po wystąpieniu PROM. Brak znamiennej statystycznie różnicy tłumaczyć można niewielką liczebnością grupy badanej, a także przyjętym kryterium czasowym (poród do 24h i powyżej 24h od momentu PROM).

Te ciekawe obserwacje są zgodne ze spostrzeżeniami innych autorów. Badanie Murtha i wsp. potwierdza zależność pomiędzy stężeniem IL-6 w osoczu ciężarnych a momentem wystąpienia PTD [10].

W innym badaniu potwierdzono dodatkowo korelację pomiędzy stężeniem IL-8 a wystąpieniem PTD, ale tych samych zależności nie odnotowano dla TNF-α [11]. Również Vogel i wsp. podjęli ocenę znaczenia biomarkerów w predykcji porodu przedwczesnego.



**Tabela III.** Porównanie średnich wartości badanych cytokin (IL-6, TNF- $\alpha$ , G-CSF), CRP oraz leukocytozy w grupach kobiet, u których poród odbył się  $\leq 24$ h oraz  $>24$ h od chwili pęknięcia błon płodowych.

| Cytokiny                               | Poród $\leq 24$ h<br>od momentu PROM | Poród $>24$ h<br>od momentu PROM | p         |
|----------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|-----------|
|                                        | n = 15                               | n = 20                           |           |
| <b>IL-6 [pg/mL]</b>                    |                                      |                                  |           |
| średnia ( $\pm$ SD)                    | 6,42 $\pm$ 4,14                      | 5,71 $\pm$ 3,42                  | p = 0,583 |
| mediana                                | 6,34                                 | 4,52                             |           |
| min. – max.                            | 1,29–11,72                           | 1,33–11,91                       |           |
| <b>TNF-<math>\alpha</math> [pg/mL]</b> |                                      |                                  |           |
| średnia ( $\pm$ SD)                    | 1,30 $\pm$ 0,30                      | 1,53 $\pm$ 0,80                  | p = 0,282 |
| mediana                                | 1,37                                 | 1,30                             |           |
| min. – max.                            | 0,87–1,92                            | 0,83 – 4,49                      |           |
| <b>G-CSF [pg/mL]</b>                   |                                      |                                  |           |
| średnia ( $\pm$ SD)                    | 147,05 $\pm$ 103,88                  | 118,81 $\pm$ 115,71              | p = 0,461 |
| mediana                                | 100,60                               | 83,00                            |           |
| min. – max.                            | 68,13–426,64                         | 40,08–546,95                     |           |
| <b>CRP [mg/L]</b>                      |                                      |                                  |           |
| średnia ( $\pm$ SD)                    | 37,82 $\pm$ 28,41                    | 45,28 $\pm$ 53,46                | p = 0,628 |
| mediana                                | 25,60                                | 24,55                            |           |
| min. – max.                            | 4,30–90,80                           | 1,55–223,40                      |           |
| <b>Leukocyty [tys./mm<sup>3</sup>]</b> |                                      |                                  |           |
| średnia ( $\pm$ SD)                    | 11,27 $\pm$ 3,80                     | 12,30 $\pm$ 3,36                 | p = 0,399 |
| mediana                                | 10,00                                | 12,00                            |           |
| min. – max.                            | 7,00–19,00                           | 7,00–20,00                       |           |

IL-6 – interleukina-6

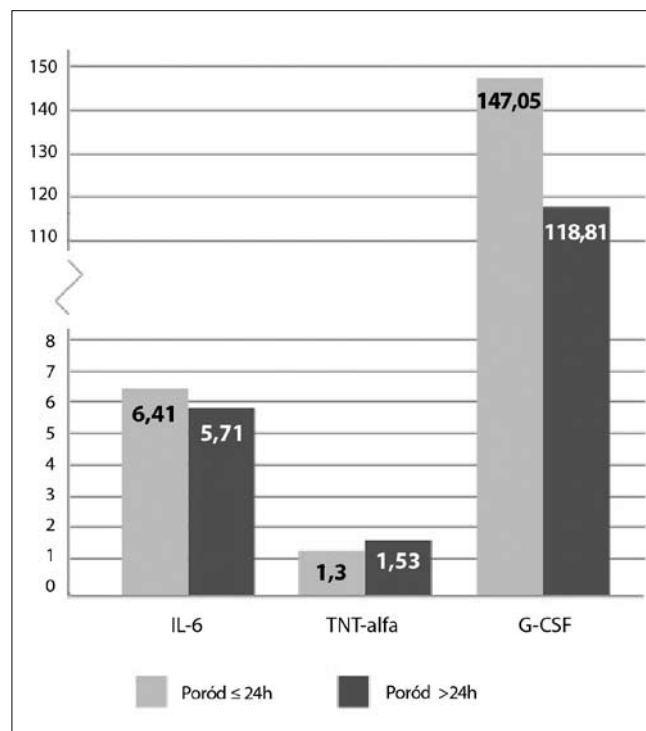
TNF- $\alpha$  – czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$ 

G-CSF – czynnik stymulujący wzrost kolonii G

CRP – białko C-reaktywne

W przeprowadzonych badaniach autorzy ci stwierdzili istotny wzrost ryzyka wystąpienia PTD u pacjentek z podwyższonymi wartościami IL-6 w płynie owodniowym i śluzie szyjkowym, jak również G-CSF w surowicy [12]. W pracy Zhanga i wsp. (46 pacjentek z PROM, 46 pacjentek z zachowanymi błonami płodowymi) stężenie badanych cytokin (IL-6, IL-8 oraz TNF- $\alpha$ ) w surowicy krwi oraz płynie owodniowym było wyższe w przypadku ciężarnych z PROM niż w grupie kontrolnej ( $p < 0,05$ ). Zauważono również korelację pomiędzy stężeniem IL-6, IL-8 oraz TNF- $\alpha$  a czasem od momentu pęknięcia błon płodowych do wystąpienia porodu. Im dłuższy był ten okres, tym notowano wyższe wartości stężenia opisanych cytokin. Powyższa prawidłowość dotyczyła zarówno stężenia w płynie owodniowym, jak i surowicy krwi ciężarnych [13].

Poniedziałek-Czajkowska i wsp. badali rolę IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8 oraz TNF- $\alpha$  w ciąży powikłanej PROM. Grupę badaną stanowiło 45 ciężarnych z PROM rozpoznanych pomiędzy 24 a 34 tc., natomiast grupę kontrolną 41 ciężarnych w porównywalnym okresie ciąży z zachowanymi błonami płodowymi. Poziom IL-1 $\beta$ , IL-8 oraz TNF- $\alpha$  w surowicy krwi ciężarnych z PROM był istotnie wyższy w porównaniu do grupy z zachowanymi błonami ( $p < 0,00001$ ), natomiast w przypadku IL-4 i IL-6 nie wykazano takiej korelacji. W pracy tej autorzy podkreślają, że zmiany w układzie immunologicznym mogą być zarówno przyczyną, jak i skutkiem PROM, co znajduje swoje odbicie w zmianach stosunku cytokin prozapalnych [14].

**Rycina 4.** Porównanie stężenia wybranych cytokin w grupach pacjentek  $\leq 24$ h i  $>24$ h od momentu PROM.

**Tabela IV.** Porównanie średnich wartości badanych cytokin (IL-6, TNF- $\alpha$ , G-CSF), CRP oraz leukocytozy w grupie kobiet, u których poród odbył się  $\leq 24$ h od momentu PROM.

| Cytokiny                                                                                | I badanie<br>(1 dzień przed porodem)          | II badanie<br>(2 dni po porodzie)          | p           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------|
|                                                                                         | n=15                                          | n=15                                       |             |
| <b>IL-6 [pg/mL]</b><br>średnia ( $\pm$ SD)<br>mediana<br>min. – max.                    | 6,42 $\pm$ 4,14<br>6,34<br>1,29–11,71         | 7,79 $\pm$ 3,58<br>8,08<br>1,95–11,77      | p = 0,339   |
| <b>TNF-<math>\alpha</math> [pg/mL]</b><br>średnia ( $\pm$ SD)<br>mediana<br>min. – max. | 1,29 $\pm$ 0,30<br>1,37<br>0,87–1,92          | 1,61 $\pm$ 1,03<br>1,35<br>0,65–4,83       | p = 0,263   |
| <b>G-CSF [pg/mL]</b><br>średnia ( $\pm$ SD)<br>mediana<br>min. – max.                   | 147,06 $\pm$ 103,88<br>100,59<br>68,13–426,64 | 74,67 $\pm$ 46,84<br>51,67<br>32,14–182,42 | p = 0,020*  |
| <b>CRP [mg/L]</b><br>średnia ( $\pm$ SD)<br>mediana<br>min. – max.                      | 2,92 $\pm$ 1,45<br>2,60<br>1,31–7,11          | 35,66 $\pm$ 27,61<br>30,12<br>6,20–121,65  | p < 0,0001* |
| <b>Leukocyty [tys./mm<sup>3</sup>]</b><br>średnia ( $\pm$ SD)<br>mediana<br>min. – max. | 11,27 $\pm$ 3,77<br>10,00<br>7,00–19,00       | 17,62 $\pm$ 8,30<br>15,93<br>9,20–34,76    | p = 0,012*  |

IL-6 – interleukina-6

TNF- $\alpha$  – czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$

G-CSF – czynnik stymulujący wzrost kolonii G

CRP – białko C-reaktywne

\* – statystycznie istotne

W pracy Shobokshi i wsp. badano rolę stężenia wybranych cytokin (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ ) w etiologii PROM przed 36 tygodniem ciąży (30 kobiet – ciężarne z PTD oraz 20 kobiet – grupa kontrolna, kobiety w tym samym okresie czasu trwania ciąży, bez objawów klinicznych PTD).

U wszystkich ciężarnych oznaczono stężenie cytokin w surowicy krwi oraz w pobranym w trakcie amniocentezy, płynie owodniowym. Dodatkowo badano obecność drobnoustrojów w płynie owodniowym kobiet z PROM. Stężenie badanych cytokin w płynie owodniowym u kobiet z PTD było statystycznie znacznie wyższe niż w przypadku kobiet z grupy kontrolnej. Jednak stężenie tych samych cytokin w surowicy krwi pacjentek z dodatnim wynikiem hodowli płynu owodniowego było podwyższone tylko w 52% przypadków [15].

Witczak i wsp. badali stężenie IL-1, IL-6 oraz IL-8 w surowicy krwi pacjentek oraz w płynie owodniowym u ciężarnych z PROM w ciąży niedonoszonej (grupa badana I – 44 pacjentki) oraz w ciąży donoszonej z pęknięciem błon płodowych (grupa badana II – 33 pacjentki). Oceniano stężenie cytokin w surowicy krwi, w płynie owodniowym tuż po pęknięciu błon płodowych oraz w chwili porodu (oznaczenie tylko w surowicy krwi ciężarnych). Stężenie wszystkich cytokin w płynie owodniowym było znacząco wyższe w przypadku wystąpienia PROM przed 36 tc. w porównaniu z pęknięciem błon w ciąży donoszonej. Podobnie stężenie IL-1 w surowicy krwi było znacząco wyższe w I grupie

niż w grupie II, natomiast stężenie IL-6 było wyższe w przypadku PROM w ciąży donoszonej (grupa II).

W obu grupach stężenie IL-6 w surowicy krwi było istotnie wyższe w chwili porodu, aniżeli w chwili pęknięcia błon płodowych. Według autorów brak korelacji pomiędzy stężeniami badanych cytokin w płynie owodniowym oraz w surowicy krwi ciężarnych może sugerować obecność „bariery łożyskowej” dla tych cytokin. Ponadto ich wyższe stężenie w przypadku PROM przed 36 tygodniem ciąży w porównaniu do stężenia w ciąży donoszonej z pęknięciem błon płodowych może wskazywać na istnienie dwóch oddzielnych mechanizmów prowadzących do pęknięcia błon w porodzie przedwczesnym i w porodzie o czasie [16].

Z kolei El-Shazly i wsp., badając ekspresję cytokin w łożysku 30 kobiet z PTD, 30 pacjentek z PROM i 30 kobiet z porodem o czasie, zaobserwowali istotny wzrost poziomu cytokin typu Th1: IL-2 i INF- $\gamma$  oraz IL-12 w grupach pacjentek z PROM i porodem przedwczesnym. Natomiast poziomy cytokin typu Th2 IL-6, IL-4 i IL-10 były statystycznie znacznie wyższe u kobiet, które urodziły o czasie [17].

Autorzy publikacji z 2002 roku (Fortunato i wsp.) wykazali istotny udział TNF- $\alpha$  w etiologii PROM. W pracy badano wpływ poszczególnych cytokin prozapalnych (IL-1, IL-6 oraz TNF- $\alpha$ ) na wzrost ekspresji mRNA metaloproteinazy-2 (MMP-2) i metaloproteinazy-9 (MMP-9) odpowiedzialnych za rozkład kolagenu

**Tabela V.** Porównanie średnich wartości badanych cytokin (IL-6, TNF- $\alpha$ , G-CSF), CRP oraz leukocytozy w grupie kobiet, u których poród odbył się >24h od momentu PROM.

| Cytokiny                                                                                 | I badanie<br>(1 dzień przed porodem)         | II badanie<br>(2 dni po porodzie)          | p                     |
|------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------|-----------------------|
|                                                                                          | n=20                                         | n=20                                       |                       |
| <b>IL-6 [pg/mL]</b><br>średnia ( $\pm$ SD)<br>mediana<br>min. – max.                     | 5,71 $\pm$ 3,42<br>4,52<br>1,33–11,91        | 8,11 $\pm$ 3,41<br>8,59<br>1,83–12,01      | <b>p = 0,032*</b>     |
| <b>TNF- <math>\alpha</math> [pg/mL]</b><br>średnia ( $\pm$ SD)<br>mediana<br>min. – max. | 1,53 $\pm$ 0,79<br>1,29<br>0,83–4,49         | 1,81 $\pm$ 1,09<br>1,47<br>0,86–5,55       | p = 0,366             |
| <b>G-CSF [pg/mL]</b><br>średnia ( $\pm$ SD)<br>mediana<br>min. – max.                    | 118,81 $\pm$ 115,72<br>83,03<br>40,08–546,95 | 83,29 $\pm$ 56,68<br>68,63<br>11,33–231,59 | p = 0,225             |
| <b>CRP [mg/L]</b><br>średnia ( $\pm$ SD)<br>mediana<br>min. – max.                       | 5,78 $\pm$ 5,98<br>3,19<br>1,15–23,24        | 52,45 $\pm$ 51,89<br>44,96<br>1,55–223,40  | <b>p &lt; 0,0001*</b> |
| <b>Leukocyty [tys./mm<sup>3</sup>]</b><br>średnia ( $\pm$ SD)<br>mediana<br>min. – max.  | 12,30 $\pm$ 3,36<br>12,00<br>7,00–20,00      | 15,92 $\pm$ 5,09<br>14,82<br>8,16–27,40    | <b>p = 0,012*</b>     |

IL-6 – interleukina-6

TNF- $\alpha$  – czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$ 

G-CSF – czynnik stymulujący wzrost kolonii G

CRP – białko C-reaktywne

\* – statystycznie istotne

IV tworzącego błony płodowe. Nie zauważono wzrostu ekspresji badanego mRNA po stymulacji IL-1 czy IL-6. Natomiast istotny statystycznie wzrost mRNA w porównaniu z grupą kontrolną zanotowano po stymulacji TNF- $\alpha$  [18].

Doniesienia na temat oceny stężenia wybranych cytokin w przewidywaniu wystąpienia PTD i PROM są różne, a wnioski niekiedy diametralnie odmienne. Niektórzy autorzy poddają jednak w wątpliwość przydatność oznaczenia cytokin w prognozowaniu czasu wystąpienia porodu przedwczesnego, zakażenia wewnątrzrodniowego i infekcji u noworodków. W badaniu porównującym stężenia IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  i INF- $\gamma$  (77 kobiet z PTD, 47 zdrowych kobiet w podobnym okresie ciąży bez objawów PTD, 19 kobiet, które urodziły o czasie) stwierdzono brak różnicy w stężeniu cytokin pomiędzy grupą ciężarnych z porodem przedwczesnym a zdrowymi ciężarnymi [19].

Szereg obserwacji wskazuje na fakt, że infekcja wewnątrzmaciczna i stany zapalne odgrywają ważną rolę w etiologii przedwczesnego pęknięcia błon płodowych, samoistnego porodu przedwczesnego, i długotrwałych odległych skutków wcześniactwa u noworodka. Wczesna diagnostyka w oparciu o oznaczenia polimorfizmów genetycznych wybranych cytokin mogłaby pomóc klinicyście w zapobieganiu niekorzystnemu przebiegowi ciąży powikłanej PROM. Wydaje się, że wartościowym badaniem jest oznaczenie stężenia cytokin w płynie owodniowym, które odznacza się większą wartością predykcyjną wystąpienia

porodu przedwczesnego. W praktyce klinicznej zdecydowanie prostsze jest jednak oznaczanie cytokin w ślinie szyjkowym oraz surowicy krwi ciężarnej. Z punktu widzenia przydatności klinicznej pytaniem pozostaje natomiast czas i powtarzalność oznaczenia poziomu wybranych cytokin. Optymalnym działaniem jest wykonywanie oznaczeń u ciężarnej z rozpoznaniem PROM w trakcie rutynowych badań przy przyjęciu do szpitala i okresowe ich powtarzanie. Ponieważ markery, jak IL-6 pomimo stosunkowo wysokiej czułości nie są specyficzne dla wystąpienia porodu przedwczesnego oraz zakażenia wewnątrzrodniowego, stąd prawdopodobnie dopiero kompleksowe oznaczanie kilku cytokin może być przydatne dla określenia ryzyka powikłań w ciąży z PROM [20]. Szersze zastosowanie oznaczania cytokin u ciężarnych z PROM i PTD jest niestety ograniczone z powodu zbyt wysokich kosztów badań.

## Wnioski

1. Statystycznie istotne różnice w stężeniu IL-6, G-CSF i CRP przed oraz po porodzie sugerują udział tych czynników w etiologii porodu przedwczesnego u ciężarnych z PROM.
2. Odnotowane wyższe stężenie IL-6 oraz G-CSF w grupie kobiet, u których poród odbył się do 24h po wystąpieniu PROM sugeruje, że cytokiny te mogą być ściśle włączone w procesy prowadzące do wystąpienia porodu.



3. Istotnie statystycznie różnice w stężeniu IL-6 oraz G-CSF przed i po porodzie w grupach kobiet, u których poród odbył się  $\leq 24$ h oraz  $>24$ h mogą wskazywać na znaczący udział wzajemnych zmian w stosunku tych cytokin w etiologii PTD w przypadku wystąpienia PROM.

**Badania finansowane ze środków KBN - N 406 061 31/2330.**

## Piśmiennictwo

1. Genc M, Ford C. The clinical use of inflammatory markers during pregnancy. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2010, 22, 116-121.
2. Czajka R. Etiopatogeneza porodu przedwczesnego. W: Poród przedwczesny. Red. Bręborowicz G, Paszkowski T. Poznań: Ośrodek Wydawnictw Naukowych. 2006, 11-19.
3. Beck S, Wojdyla D, Say L, [et al.]. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bull World Health Organ.* 2010, 88, 31-38.
4. Lawn J, Gravett M, Nunes T, [et al.]. Global report on preterm birth and stillbirth (1 of 7): definitions, description of the burden and opportunities to improve data. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2010, 10, 1-22.
5. Lawn J, Wilczynska-Ketende K, Cousens S. Estimating the causes of 4 million neonatal deaths in the year 2000. *Int J Epidemiol.* 2006, 35, 706-718.
6. Pennell C, Jacobsson B, Williams S, [et al.]. Genetic epidemiologic studies of preterm birth: guidelines for research. *Am J Obstet Gynecol.* 2007, 196, 107-118.
7. Goldberg R, Hauth J, Andrews W, [et al.]. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med.* 2000, 342, 1500-1507.
8. Tasci Y, Dilbaz B, Uzmez Onal B. The value of cord blood interleukin-6 levels for predicting chorioamnionitis, funisitis, and neonatal infection in term premature rupture of membranes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006, 128, 34-39.
9. Jun J, Yoon B, Romero R, [et al.]. Interleukin 6 determinations in cervical fluid have diagnostic and prognostic value in preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2000, 183, 868-873.
10. Murtha A, Greig P, Jimmerson C, Herbert W. Maternal serum interleukin-6 concentration as a marker for impending preterm delivery. *Obstet Gynecol.* 1998, 91, 161-164.
11. von Minckwitz G, Grischke E, Schwab S, [et al.]. Predictive value of serum interleukin-6 and -8 levels in preterm labor or rupture of the membranes. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2000, 79, 667-672.
12. Vogel I, Thorsten P, Curry A, [et al.]. Biomarkers for the prediction of preterm delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2005, 84, 516-525.
13. Zhang W, Wang L, Zhao Y, Kang J. Changes in cytokine (IL-8, IL-6 and TNF- $\alpha$ ) levels in amniotic fluid and maternal serum in patients with premature rupture of the membranes. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei).* 2000, 63, 311-315.
14. Poniedziałek-Czajkowska E, Leszczyńska-Gorzelak B, Oleszczuk B. Maternal serum cytokine levels in pregnancies complicated by PROM. *Ginekol Pol.* 2000, 71, 746-751.
15. 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 Gynecol Obstet.* 2002, 79, 209-215.
16. Witczak M, Torbe A, Czajka R. Maternal serum and amniotic fluid IL-1  $\alpha$ , IL-1  $\beta$ , IL-6 and IL-8 levels in preterm and term labor complicated by PROM. *Ginekol Pol.* 2003, 74, 1343-1347.
17. El-Shazly S, Makhseed M, Azizieh F, Raghupathy R. Increased expression of pro-inflammatory cytokines in placentas of women undergoing spontaneous preterm delivery or premature rupture of membranes. *Am J Reprod Immunol.* 2004, 52, 45-52.
18. Fortunato S, Menon R, Lombardi S. Role of tumor necrosis factor- $\alpha$  in the premature pupture of membranes and preterm labour pathways. *Am J Obstet Gynecol.* 2002, 187, 1159-1162.
19. Bahar A, Ghalib H, Moosa R, [et al.]. Maternal serum interleukin-6, interleukin-8, tumor necrosis factor- $\alpha$  and interferon- $\gamma$  in preterm labor. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2003, 82, 543-549.
20. Valerimsky M Jr, Stransky P, Valerimsky M, Tosner J. Relationship of IL-6, IL-8, TNF and sICAM-1 levels to PROM, pPROM, and the risk of early-onset neonatal sepsis. *Neuro Endocrinol Lett.* 2008, 29, 303-311.



## Śląska Szkoła Ultrasonografii i Nowoczesnych Metod Diagnostycznych

zaprasza na kursy  
2011/2012

16-17 września 2011

**Ultrasonografia i Doppler w ginekologii i perinatologii**  
kurs dla zaawansowanych

11-12 listopada 2011

**Podstawy Ultrasonografii**  
kurs dla początkujących

02-03 marca 2012

**Diagnostyka prenatalna i echokardiografia płodowa**  
kurs dla zaawansowanych

18-19 maja 2012

**Diagnostyka prenatalna. Badania Dopplerowskie  
i echokardiografia płodowa**  
kurs dla zaawansowanych

Kierownik Naukowy kursów:  
prof. dr hab. n. med. Krzysztof Sadowski

KURSY POSIADAJĄ AKREDYTACJĘ SEKCJI USG PTG

więcej informacji:

**www.sszu.pl**

**kontakt i zgłoszenia:**  
**tel: +48 608 500 627,**  
**e-mail: biuro@sszu.pl**

**Śląska Szkoła Ultrasonografii**  
**ul. Piotrowicka 83, 40-724 Katowice**

KURSY ODBYWAJĄ SIĘ W HOTELU DIAMENT W USTRONIU