

Przebieg ciąży i porodu u ciężarnych z nadmierną masą ciała.

Tabela II. Analiza powikłań w przebiegu ciąży w zależności od wskaźnika masy ciała (BMI).

Powikłania - n(%)	Ciężarne z niedowagą (n=8)	Ciężarne z prawidłową masą ciała		Ciężarne z nadwagą (n=35)	Ciężarne z otyłością (n=20)	P*
		A (n=57)	B (n=12)			
Krwawienie w ciąży	1 (12,5%)	0 (0%)	1 (8,3%)	4 (11,4%)	3 (15,0%)	0,04
Poród przedwczesny zagrażający	2 (25,0%)	4 (7,0%)	1 (8,3%)	3 (8,6%)	0 (0%)	NS
Nadciśnienie tętnicze	0 (0%)	0 (0%)	1 (8,3%)	6 (17,1%)	7 (35,0%)	0,02
Niedokrwistość	1 (12,5%)	15 (26,3%)	1 (8,3%)	5 (14,3%)	2 (10,0%)	NS
Zakażenia układu moczowego	2 (25,0%)	10 (17,5%)	1 (8,3%)	12 (34,3%)	7 (35,0%)	0,04
Stany zapalne pochwy	3 (37,5%)	10 (17,5%)	1 (8,3%)	5 (14,3%)	3 (15,0%)	NS
Cukrzyca	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (10,0%)	NS

* - nieparametryczny test Kruskala-Wallisa dla zmiennych opisanych więcej niż dwoma kategoriami

BMI – *Body Mass Index*

A – prawidłowa masa ciała wyjściowa z prawidłowym przyrostem masy ciała w ciąży

B – prawidłowa masa ciała wyjściowa z nadmiernym przyrostem masy ciała w ciąży

Tabela III. Analiza sposobu ukończenia ciąży w zależności od wyjściowego wskaźnika masy ciała w badanej grupie kobiet.

Rodzaj porodu n(%)	Ciężarne z niedowagą (n=8)	Ciężarne z prawidłową masą ciała		Ciężarne z nadwagą (n=35)	Ciężarne z otyłością (n=20)	P*
		A (n=57)	B (n=12)			
Poród siłami natury	8 (100,0%)	46 (80,7%)	10 (83,8%)	24 (68,6%)	13 (65,0%)	0,01
Cięcie cesarskie	0 (0,0%)	11 (19,3%)	2 (16,7%)	10 (28,6%)	7 (35,0%)	0,001
Vacuum extractor	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (2,9%)	0 (0,0%)	NS

* - nieparametryczny test Kruskala-Wallisa dla zmiennych opisanych więcej niż dwoma kategoriami

A – prawidłowa masa ciała wyjściowa z prawidłowym przyrostem masy ciała w ciąży

B – prawidłowa masa ciała wyjściowa z nadmiernym przyrostem masy ciała w ciąży

Nie zaobserwowano istotnych różnic w częstości cięć cesarskich pomiędzy pacjentkami z wyjściową prawidłową masą ciała i prawidłowym przyrostem masy ciała w ciąży a grupą, gdzie przyrost ten był nadmierny. (Tabela III).

Spośród 132 badanych kobiet 101 (76,5%) rodziło siłami natury. U 59 (58,4%) wykonano nacięcie krocza. Pęknięcie pochwy stwierdzono w 9 (8,9%) przypadkach; pęknięcie krocza I i II stopnia u 9 (8,9%) rodzących, pęknięcie szyjki macicy u 18 (17,8%), a dystocję barkową u 2 (1,9%) ciężarnych. Konieczność wykonania instrumentalnej kontroli jamy macicy wystąpiła u 19 (18,8%) położnic.

U kobiet z otyłością oraz z wyjściową prawidłową masą ciała, które przytyły ponad normatywnie (grupa B) zaobserwowano istotnie statystycznie wyższą częstość wykonywania nacięcia krocza (procedurę tę wykonano odpowiednio u 92,3% i 80,0% rodzących). Nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic w częstości występowania pęknięć pochwy. Pęknięcia krocza I i II stopnia zaobserwowano jedynie w grupie z prawidłową masą ciała i prawidłowym przyrostem masy ciała podczas ciąży (grupa A) (13,0% przypadków) oraz w grupie pacjentek z nadwagą (12,5%), co prawdopodobnie wynikało z niższej częstości wykonywania episiotomii w tych grupach rodzących w porównaniu

Ulman-Włodarz I, et al.

do pozostałych grup. Najniższą częstość pęknięć szyjki macicy zaobserwowano w podgrupie kobiet z nadwagą oraz podgrupie B. Dystocja barkowa wystąpiła istotnie statystycznie częściej u kobiet z nadwagą oraz otyłością (odpowiednio 4,2% i 7,7% przypadków). Konieczność wykonania instrumentalnej kontroli jamy macicy po porodzie występowała istotnie statystycznie częściej u kobiet z otyłością (30,8% przypadków) oraz niedwagą (25,0% przypadków). (Tabela IV).

Analiza parametrów noworodka nie wykazała istotnych statystycznie różnic pomiędzy podgrupami w odniesieniu do średniej długości ciała oraz punktacji w skali Apgar. Równocześnie zaobserwowano, że największa masa ciała u noworodków występowała w podgrupie kobiet z nadwagą oraz w grupie kobiet ciężarnych z prawidłową masą ciała i nadmiernym przyrostem jej wartości w ciąży (grupa B) (odpowiednio 3699,7g i 3624,2g). (Tabela V).

Tabela IV. Analiza przebiegu porodów siłami natury i śródpodrodowych powikłań u badanych kobiet rodzących siłami natury.

Powikłanie porodu siłami natury n(%)	Ciężarne z niedwagą (n=8)	Ciężarne z prawidłową masą ciała		Ciężarne z nadwagą (n=35)	Ciężarne z otyłością (n=20)	p
		A (n=57)	B (n=12)			
Nacięcie krocza	5 (62,5%)	24 (52,2%)	8 (80,0%)	10 (41,7%)	12 (92,3%)	0,01
Pęknięcie pochwy	1 (12,5%)	3 (6,5%)	1 (10,0%)	3 (12,5%)	1 (7,7%)	NS
Pęknięcie krocza I i II stopnia	0 (0,0%)	6 (13,0%)	0 (0,0%)	3 (12,5%)	0 (0,0%)	NS
Pęknięcie szyjki macicy	2 (25,0%)	11 (23,9%)	0 (0,0%)	2 (8,3%)	3 (23,1%)	NS
Instrumentalna kontrola jamy macicy	2 (25,0%)	9 (19,6%)	0 (0,0%)	4 (16,6%)	4 (30,8%)	0,03
Dystocja barkowa	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (4,2%)	1 (7,7%)	0,02

A – prawidłowa masa ciała wyjściowa z prawidłowym przyrostem masy ciała w ciąży

B – prawidłowa masa ciała wyjściowa z nadmiernym przyrostem masy ciała w ciąży

Tabela V. Analiza długości, masy ciała oraz stanu urodzeniowego noworodków w pierwszej minucie po urodzeniu w zależności od wyjściowej masy ciała badanych ciężarnych.

Parametr*	Ciężarne z niedwagą (n=8)	Ciężarne z prawidłową masą ciała		Ciężarne z nadwagą (n=35)	Ciężarne z otyłością (n=20)	P**
		A (n=57)	B (n=12)			
Długość (cm)	53,5 (21-55) ±2,03	54,2 (51-56) ±2,81	55,2 (52-57) ±2,27	55,8 (54-58) ±2,95	54,4 (51-56) ±2,73	NS
Masa ciała (g)	3271,2 (2850-3550) ±367,03	3370,0 (2800-3850) ±496,71	3624,2 (3150-4050) ±512,12	3699,7 (3250-4125) ±540,65	3487,5 (3050-3875) ±456,27	0,01
Apgar (pkt.)***	9 (9-10)	9 (9-10)	9 (9-10)	9 (8-10)	9 (8-10)	NS

* - w tabeli podano wartości średnia, przedział oraz odchylenie standardowe

** - nieparametryczny test Kruskala-Wallisa dla zmiennych opisanych więcej niż dwoma kategoriami

*** - mediana oraz dolny/górny kwartył

A – prawidłowa masa ciała wyjściowa z prawidłowym przyrostem masy ciała w ciąży

B – prawidłowa masa ciała wyjściowa z nadmiernym przyrostem masy ciała w ciąży

Przebieg ciąży i porodu u ciężarnych z nadmierną masą ciała.

Dyskusja

Nadmierna masa ciała u ciężarnych stanowi obecnie poważny problem położniczy. Przebieg ciąży i porodu u kobiet z nadwagą lub otyłością związany jest ze zwiększonym ryzykiem powikłań, tak dla matki, jak i dla noworodka [19,20]. Opieka prenatalna nad kobietą ciężarną z nadmierną masą ciała staje się więc obecnie poważnym wyzwaniem dla każdego położnika.

W prezentowanym badaniu autorzy podjęli próbę analizy przebiegu ciąży oraz porodu u kobiet z nadmierną masą ciała przed ciążą, a także odpowiedzi na pytanie, który z parametrów: nadmierna przedciążowa masa ciała czy nadmierny przyrost masy ciała w czasie ciąży jest istotnym czynnikiem ryzyka powikłań ciąży i porodu. Jest to jedno z niewielu opracowań stawiających sobie za cel ustalenie wpływu nadmiernej masy ciała i nienormalnego przyrostu masy ciała w ciąży na wyniki położnicze i neonatologiczne.

Wyniki prowadzonych przez autorów badań wykazały, że 17,4% kobiet ciężarnych z prawidłową przedciążową masą ciała wyrażoną wskaźnikiem BMI, zwiększyło swoją masę ciała powyżej norm zalecanych przez WHO i ACOG [7]. Równocześnie kobiety otyłe cechowały się istotnie niższym (choć nieprawidłowym w odniesieniu do wspomnianych norm) przyrostem masy ciała w ciąży w porównaniu do kobiet z przedciążową nadwagą oraz pacjentek z podgrupy B. Analogiczne wyniki uzyskał Dudkiewicz i wsp. [22].

Szymański i wsp. oceniając odsetek powikłań w przebiegu ciąży i porodu u ciężarnych z nadmierną masą ciała podkreślili, że masa ciała przed ciążą ma o wiele większe znaczenie w odniesieniu do ryzyka powikłań niż nadmierny przyrost masy ciała w przebiegu ciąży [23]. Obserwacje te potwierdziły badania autorów, gdzie w grupie kobiet ciężarnych z prawidłową masą ciała i nadmiernym jej przyrostem podczas ciąży nie wykazano istotnie statystycznie większej ilości powikłań w porównaniu z kobietami ciężarnymi z prawidłową masą ciała i prawidłowym przyrostem masy ciała podczas ciąży.

Zdzieńcki i wsp., Dudkiewicz i wsp., Gołąb i wsp., Krasnodębski i wsp. oraz Hincz i wsp. wykazali zwiększoną częstość występowania nadciśnienia indukowanego ciążą, zakażeń układu moczowego w ciąży oraz krwawienia w ciąży w grupie ciężarnych z nadwagą i otyłością [5,23-26].

Analogiczne wyniki zaobserwowano w prezentowanej przez autorów pracy. Równocześnie nie stwierdzono zwiększonego ryzyka porodu przedwczesnego zagrażającego w podgrupie kobiet otyłych, odmiennie niż w opracowaniu Krasnodębskiego i wsp., czy zwiększonej częstości występowania cukrzycy w grupie kobiet otyłych, jak w badaniach Hincz i wsp. [25, 26]. Zaistniałe różnice mogą wynikać z niewielkiej grupy badanych kobiet w prezentowanym przez autorów badaniu w porównaniu do badań Krasnodębskiego czy Hincza. Wydaje się, że zwiększenie populacji badanej mogłoby wykazać analogiczne zależności, ponieważ w pracy autorów odnotowano jedynie 2 przypadki cukrzycy występujące jedynie wśród otyłych ciężarnych.

Nadwaga u ciężarnych wiąże się z dwukrotnym wzrostem ryzyka cięcia cesarskiego w porównaniu do pacjentek z normatywnym BMI. W przypadku otyłości ryzyko to jest ponad trzykrotnie i większe [19]. W prezentowanej przez autorów pracy wykazano, iż cięcia cesarskie wykonywano istotnie statystycznie częściej u kobiet z nadwagą i otyłością. O analogicznych zależnościach donosi również Krasnodębski i wsp. czy Hincz i wsp. [25, 26].

Nie wykazano natomiast wpływu nadmiernego przyrostu masy podczas ciąży na sposób ukończenia ciąży – różnice w częstości cięcia cesarskiego w podgrupie kobiet z przedciążową prawidłową masą ciała i nadmiernym przyrostem masy ciała podczas ciąży oraz przedciążową prawidłową masą ciała i prawidłowym przyrostem masy ciała w ciąży nie były istotne statystycznie. Odmiennie wyniki uzyskali inni autorzy. Cedergren i wsp. oraz Stotland i wsp. wykazali, że nadmierny przyrost masy ciała w ciąży wiąże się z wyższym odsetkiem cięć cesarskim [27, 28]. Wydaje się, że różnice te wynikają z niewielkiej grupy badanej w pracy własnej autorów, a także z odmiennych wskazań do cięcia cesarskiego w badaniach innych autorów (rekomendacje ACOG oraz Szwedzkiego Towarzystwa Ginekologów i Położników).

Analiza przebiegu porodu i częstość wystąpienia powikłań w trakcie porodu wykazała, że dystocja barkowa występowała jedynie w przypadku ciężarnych z nadwagą oraz otyłych. Analogiczne dane prezentował Skoczylas i wsp. wykazując, że wspomniane parametry są znamienym czynnikiem ryzyka dystocji barkowej, choć Neumann i wsp. negują występowanie takich zależności [20, 29]. Podobnie jak w pracach innych autorów konieczność wykonania instrumentalnej kontroli jamy macicy po porodzie obserwowano znamienne częściej u pacjentek z otyłością w porównaniu do pozostałych podgrup [31]. Wydaje się, że u ciężarnych otyłych proces obkurczania się macicy przebiega w sposób nieprawidłowy, co zwiększa ryzyko masywnego krwawienia okołoporodowego [30].

Ocena parametrów noworodka wykazała znamienne wyższą urodzeniową masę ciała noworodków matek z nadwagą oraz z prawidłową przedciążową masą ciała, które przytły w ciąży ponadnormatywnie, w porównaniu do ciężarnych z nadwagą oraz prawidłowym przyrostem masy ciała w ciąży. Wydaje się, że na urodzeniową masę ciała płodu większy wpływ ma przyrost masy ciała w czasie ciąży niż przedciążowa masa ciała, co potwierdzają obserwacje własne (wyższy przyrost masy ciała obserwowano u kobiet z nadwagą i w podgrupie B niż u kobiet otyłych i z podgrupy A) oraz badania innych autorów [27, 28, 32].

Nieco odmiennie wyniki badań uzyskał Hincz i wsp., którzy wykazali, że kobiety otyłe w porównaniu do kobiet z BMI<30 częściej rodzą noworodki z wyższą urodzeniową masą ciała [25]. Te różnice w wynikach badań mogą jednak wynikać z dużej dysproporcji pomiędzy grupą badaną a kontrolą w badaniach Hincza oraz łącznego traktowania wszystkich kobiet z BMI<30 jako grupy kontrolnej (w prezentowanych badaniach własnych autorów grupa badana została podzielona na podgrupy ze względu na przedciążowe BMI). Nie stwierdzono również istotnych różnic w ocenie stanu noworodka w pierwszej minucie po urodzeniu w skali Apgar, co koreluje z wynikami badań Hincza i wsp., Stephan i wsp. oraz Ducarme i wsp. [25, 32, 33]. Wydaje się, że zarówno nadmierna przedurodzeniowa masa ciała, jak i nadmierny przyrost masy ciała w ciąży nie wpływają w sposób istotny na stan urodzeniowy noworodka.

Wyniki prezentowanych przez autorów badań wykazały, że ciąża oraz poród u pacjentek otyłych i z nadwagą charakteryzuje się wysokim ryzykiem perinatalnym i wymaga intensywnego nadzoru położniczego. Równocześnie nie tylko nadmierna przedciążowa masa ciała ma negatywny wpływ na przebieg ciąży i porodu, ale również nadmierny przyrost masy ciała w ciąży wpływa niekorzystnie na badane parametry perinatologiczne. Wydaje się więc, że celowe jest prowadzenie intensywnej akcji edukacyjnej

zmierzającej zarówno do redukcji masy ciała przed planowaną ciążą, jak i świadomej kontroli przyrostu masy ciała w ciąży. Tylko takie postępowanie może ograniczyć ryzyko powikłań położniczych i neonatologicznych.

Na zakończenie warto wspomnieć o ograniczeniach badań autorów. Po pierwsze, retrospektywny charakter badania oraz niewielka grupa badana nie pozwalają na uogólnienie wyników do populacji polskiej. Po drugie, dane uzyskane z kart ciąży dotyczące masy ciała mogą nie być dość precyzyjne dla dokładnego określenia przedciążowego BMI.

Z drugiej jednak strony Malinowski i wsp. wykazali, że tak uzyskane dane o masie ciała dobrze korelują z rzeczywistymi pomiarami masy – użyta przez autorów metoda badań wydaje się więc poprawna [9].

Po trzecie, autorzy nie podzielili podgrup kobiet z nadwagą i otyłością na kobiety, które przytyły w czasie ciąży ponadnormatywnie. Analiza badanych parametrów w takich dodatkowych podgrupach umożliwiłaby dokładną ocenę wpływu nadmiernego przyrostu masy ciała w ciąży na jej przebieg i wyniki położnicze. Wydaje się jednak, że ciężarnych z prawidłową przedciążową masą ciała z podziałem na takie właśnie podgrupy umożliwiłoby postawienie wstępnych wniosków odnośnie znaczenia nieprawidłowego przyrostu masy ciała.

Podsumowując, praca autorów stanowi cenny wkład w badania nad wpływem nadmiernej masy ciała na przebieg ciąży i porodu i jest podstawą dla dalszych badań mogących zweryfikować wstępne wnioski autorów.

Wnioski

1. Nadmierna przedciążowa masa ciała wiąże się ze zwiększonym ryzykiem powikłań ciąży oraz porodu.
2. Zarówno nadmierna przedciążowa masa ciała, jak i nadmierny przyrost masy ciała w ciąży zwiększają częstość powikłań perinatologicznych.

Praca zgłoszona na XXX Jubileuszowy Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego „Jakość życia kobiety - Salus feminae suprema lex esto” w dniach 16-19 września 2009 r. w Lublinie

Piśmiennictwo

1. Gołąb-Lipińska M, Pawłowska N, Skoczylas M, [i wsp.]. Wpływ przedciążowej otyłości matek na sposób ukończenia ciąży i stan urodzeniowy noworodków. *Ginekol Pol.* 2006, 77, suppl 2, 57-62.
2. Yu C, Teoh T, Robinson S. Obesity in pregnancy. *BJOG.* 2006, 1310, 1117-1125.
3. Krasnodębski J, Krysta A, Baliś M. Ciężce cesarskie u ciężarnej z nadwagą. *Ginekol Prakt.* 2005, 84, 31-35.
4. Seremak-Mrozikiewicz A, Drews K, Nowocię G, [i wsp.]. Otyłość ciężarnych jako problem w położnictwie. *Ginekol Pol.* 2007, 78, 234-238.
5. Zdziennicki A. Nadwaga i otyłość jako czynnik zagrożenia w perinatologii. *Ginekol Pol.* 2001, 72, 1194-1197.
6. Kanadys W. Perinatologiczne aspekty otyłości. *Medycyna Metaboliczna.* 1998, 2, 47-53.
7. Kanadys W. Przyrost masy ciała w ciąży. Relacja z przedciążową masą ciała. *Ginekol Pol.* 2000, 71, 680-683.
8. Pietrzykowska E, Wierusz-Wysocka B. Psychologiczne aspekty nadwagi, otyłości odchudzania się. *Pol Merkur Lekarski.* 2008, 24, 472-476.
9. Marianowski L, Cyganek A. Problemy otyłości w położnictwie i ginekologii. *Medipress Ginekol.* 1998, 4, 3-8.
10. Hollins J. Nadwaga jest sprawą rodziny. Gdańsk: *Gdańskie Wydawnictwo Psychologiczne*, 2000.
11. Catalano P. Management of obesity in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2007, 109, 419-433.
12. Ochslein-Köblle N, Roos M, Gasser T, [et al.]. Cross-sectional study of weight gain and increase in BMI throughout pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2007, 130, 180-186.
13. Kanadys W, Leszczyńska-Gorzela B, Oleszczuk J. Urodzeniowa masa ciała noworodków matek z cukrzycą – wpływ matczynej otyłości przedciążowej. *Klin Perinatol Ginekol.* 2004, 40, 31-34.
14. Jasik M, Niebisz A, Kosior D, [i wsp.]. Wskaźnik masy ciała przed ciążą u kobiet chorych na cukrzycę ciężarnych i masa urodzeniowa noworodków. *Diabetol Dośw Klin.* 2005, 5, 359-363.
15. Skoczylas M, Zdziennicki A, Laudański T. Śródporodowy nadzór z wykorzystaniem pulsoksymetrii płodowej u rodzących z nadwagą. *Ginekol Pol.* 2001;72(12):1189-1193.
16. Skoczylas M, Laudański T, Zdziennicki A. Śródporodowe wysycenie tlenem krwi tętnicznej płodu [FSpO₂] w przypadku przedciążowej nadwagi rodzącej. *Klin Perinatol Ginekol.* 2000, 32, 194-197.
17. Szczepańska E. Otyłość: genetyczne uwarunkowania – problem XXI wieku. *Endokrynol Pol.* 2003, 54, 702-707.
18. Tatorń J, Czech A, Bernas M. Otyłość Zespół Metaboliczny. Warszawa. *Wyd. Lek. PZWL*, 2007.
19. Alexander C, Liston W. Operating on the obese woman – a review. *BJOG.* 2006, 131, 1167-1172.
20. Smith S, Hulse T, Goodnight W. Effects of obesity on pregnancy. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs.* 2008, 37, 176-184.
21. Marianowski L, Cyganek A. Problemy otyłości w położnictwie i ginekologii. *Medipress Ginekol.* 1998, 4, 3-8.
22. Dudkiewicz D, Pozowski J, Sobański A, [i wsp.]. Wpływ masy ciała kobiet ciężarnych na przebieg porodu i stan urodzeniowy noworodka. *Wiad Lek.* 2004, LVII, 78-87.
23. Szymańska M, Suchońska B, Wielgoś M, [i wsp.]. Ciąża i poród u pacjentek z nadmierną masą ciała. *Ginekol Pol.* 2003, 74, 446-450.
24. Gołąb-Lipińska M, Pawłowska N, Skoczylas M, [i wsp.]. Wpływ przedciążowej otyłości matek na sposób ukończenia ciąży i stan urodzeniowy noworodków. *Ginekol Pol.* 2006, 77, Supl 2, 57-62.
25. Hincz P, Borowski D, Krekora M, [et al.]. Maternal obesity as a perinatal risk factor. *Ginekol Pol.* 2009, 80, 334-337.
26. Krasnodębski J, Zemanek-Wojnowska A, Krysta A. Ciąża i poród u pacjentki otyłej. *Ginekol Prakt.* 200, 12, 15-19.
27. Skoczylas M, Gołąb-Lipińska M, Jerzyński A, [i wsp.]. Analiza wyników położniczych w przypadku dystocji barkowej w materiale własnym w latach 2000-2007. *Ginekol Pol.* 2008, suppl 1, 58-63.
28. Neumann G, Agger A, Rasmussen J. Pre Pregnancy body mass index in non-diabetic women with and without shoulder dystocia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001, 100, 22-24.
29. Kraczkowski J, Hławacz J, Robak J, [i wsp.]. Wpływ otyłości na przebieg ciąży i porodu. *Ginekol Pol.* 1997, 68, suppl. 5, 456-460.
30. Cedergren M. Effects of gestational weight gain and body mass index on obstetric outcome in Sweden. *Int J Gynaecol Obstet.* 2006, 93, 269-274.
31. Stotland N, Cheng Y, Hopkins L, [et al.]. Gestational weight gain and adverse neonatal outcome among term infants. *Obstet Gynecol.* 2006, 108, 635-643.
32. Stepan H, Scheithauer S, Dornhöfer N, [et al.]. Obesity as an obstetric risk factor: does it matter in a perinatal center? *Obesity (Silver Spring).* 2006, 14, 770-773.
33. Ducarme G, Rodrigues A, Aissaoui F, [et al.]. Pregnancy in obese patients: which risks is it necessary to fear? *Gynecol Obstet Fertil.* 2007, 35, 19-24.

Porównanie wybranych parametrów układu odpornościowego noworodka w zależności od wskazań do cięcia cesarskiego i czasu rozwiązania ciąży

Comparison of selected elements of neonate immunological system with relation to indications for cesarean section and time of delivery

Echolc Bożena¹, Mazur Bogdan¹, Królak-Olejnik Barbara², Kwiecińska Marta¹, Karpe Jacek³, Łagan Jerzy²

¹ Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii w Zabrze

² Katedra i Oddział Kliniczny Ginekologii, Perinatologii i Neonatologii w Zabrze

³ Katedra Pediatrii, Klinika Intensywnej Patologii Noworodka w Zabrze, SUM w Katowicach

Streszczenie

Cel pracy: Przedmiotem pracy było ustalenie w jakim stopniu czas i sposób rozwiązania ciąży wpływa na zmiany ilościowe limfocytów CD3+ i ich subpopulacji CD4+, CD8+, CD25+ oraz limfocytów CD19+ i ich subpopulacji CD5+, CD23+ we krwi pępowinowej noworodków.

Materiał i metody: Przebadano 49 noworodków zdrowych urodzonych w latach 1998-2003 w Klinice Perinatologii i Ginekologii Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrze.

Uwzględniając czas trwania ciąży oraz sposób jej rozwiązania, podzielono dzieci na dwie następujące grupy:

Grupa Ib – 23 noworodki urodzone o czasie cięciem cesarskim, w tym: 15 noworodków ze wskazań elektrywnych (Ibe), 8 ze wskazań nagłych (Ibn).

Grupa IIb – 26 noworodków urodzonych przedwcześnie cięciem cesarskim, w tym: 18 ze wskazań elektrywnych (IIbe) i 8 ze wskazań nagłych (IIbn).

W badaniach zastosowano metodę znakowania krwi pępowinowej z następczą lizą krwinek czerwonych.

Wyniki: U noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim wykazano istotnie statystycznie niższą średnią liczbę limfocytów B CD5+ w porównaniu z noworodkami urodzonymi przedwcześnie tym samym sposobem. Podobne różnice dotyczyły noworodków urodzonych elektrywnym cięciem cesarskim o czasie i przedwcześnie.

Stwierdzono istotnie statystycznie niższą średnią liczbę limfocytów CD3+, CD4+ i CD25+ u noworodków urodzonych przedwcześnie elektrywnym cięciem cesarskim w porównaniu z noworodkami urodzonymi przedwcześnie drogą cięcia cesarskiego ze wskazań nagłych.

Wnioski: Czas ukończenia ciąży u matki drogą cięcia cesarskiego może wiązać się z występowaniem u jej noworodka istotnych zmian ilościowych limfocytów B CD5+.

Cięcie cesarskie wykonane u matki z nagłych wskazań może wiązać się ze zwiększeniem średniej liczby limfocytów T, limfocytów T pomocniczych, limfocytów T aktywowanych u jej noworodka urodzonego przedwcześnie. Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic w średnich wartościach pozostałych parametrów immunologicznych pomiędzy badanymi grupami.

Słowa kluczowe: **noworodek / krew pępowinowa / ciąża / limfocyty T / limfocyty B /**

Adres do korespondencji:

Barbara Królak-Olejnik

41-800 Zabrze,

Wolności 232

Tel. 032 3704234

e-mail: olejnik.basia@gmail.com

Otrzymano: 10.08.2009

Zaakceptowano do druku: 25.09.2009

Abstract

Aim of study: To define to what degree time and the way of delivery cause changes in CD3+ lymphocytes and their subpopulations CD4+, CD8+, CD25+ and CD19+ lymphocytes and their subpopulations CD5+, CD23+.

Material and methods: 49 healthy neonates born in the years 1998-2003 in the Clinical Ward of Perinatology and Gynecology of Silesian Medical University in Zabrze were examined. Taking into account the time of pregnancy and the way of delivery, the children were divided into the following groups: Group Ib - 23 full-term neonates born by Cesarean section, including 15 neonates with elective indications (Ibe), 8 with emergency indications (Ibn). Group IIb - 26 pre-term neonates born by Cesarean section, including 18 with elective indications (IIbe) and 8 with emergency indications (IIbn). Our study applied a method of umbilical blood sampling with the following red blood cells lysis.

Results: Statistically significant lower mean number of B CD5+ lymphocytes was found in full-term neonates born by Cesarean section in comparison to pre-term neonates born by the same method. Similar differences concern full-term and pre-term neonates born by elective Cesarean section. Statistically significant lower mean number of CD3+, CD4+ and CD25+ lymphocytes was found in pre-term neonates born by elective Cesarean section in comparison to pre-term neonates by emergency Cesarean section.

Conclusions: Time of pregnancy termination in a mother by Cesarean section can be related to the occurrence of statistically significant changes in B CD5+ lymphocytes quantities in her neonate. Emergency Cesarean section in a mother can be related to the increased quantity of T lymphocytes, helper T lymphocytes, activated T lymphocytes in her pre-term born neonate. No statistically significant differences were found in mean values of other immunological parameters among study groups.

Key words: **neonate / umbilical cord blood / pregnancy / T lymphocytes / B lymphocytes /**

Wstęp

Układ odpornościowy noworodka pomimo wielu odrębności i niedoskonałości w momencie przyjścia na świat nie jest całkowicie bezbronny. Chronią go mechanizmy odporności nieswoistej, dobra odpowiedź zapalna i matczyne przeciwciała otrzymane przez łożysko [1].

Różnorodne perinatalne czynniki związane z нефизиologicznym przebiegiem ciąży i porodu u matki oraz morfologiczna niedojrzałość mogą zaburzać adaptację noworodka do życia pozamacicznego. Powikłania związane z nieprawidłowym przebiegiem porodu, zwłaszcza poród przedwczesny lub operacje położnicze takie jak cięcie cesarskie, mają istotne znaczenie dla procesów adaptacyjnych noworodka. Wybór sposobu rozwiązania ciąży jest wynikiem analizy przebiegu ciąży, aktualnej sytuacji położniczej i troski o stan zdrowia noworodka. Aktualnie cięcie cesarskie jest jedną z najczęściej wykonywanych operacji położniczych, co jest związane z ciągłym poszerzaniem się listy wskazań, zarówno położniczych, jak i pozapołożniczych. Upowszechnienie cięć cesarskich istotnie przyczyniło się do obniżenia wskaźników umieralności noworodków z cięż powikłanych różnymi rodzajami patologii. Biorąc jednak pod uwagę szereg zagrożeń związanych z operacyjnym rozwiązaniem ciąży, a także względy ekonomiczne, w ostatnim czasie podejmowane są działania mające na celu obniżenie odsetka cięć cesarskich [2].

Cel pracy

Ustalenie związku między czasem i sposobem rozwiązania ciąży a zmianami ilościowymi limfocytów CD3+ i ich subpopulacji CD4+, CD8+, CD25+ oraz limfocytów CD19+ i ich subpopulacji CD5+, CD23+.

Materiał i metody

Badaniami objęto 49 noworodków zdrowych urodzonych w latach 1998-2003 w Klinice Perinatologii i Ginekologii Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrzu.

Uwzględniając czas trwania ciąży oraz sposób jej rozwiązania podzielono dzieci na następujące grupy.

Grupa I b – 23 noworodki urodzone o czasie cięciem cesarskim, w tym:

- I be – 15 noworodków ze wskazań elektywnych,
- I bn – 8 ze wskazań nagłych,

Grupa II b – 26 noworodków urodzonych przedwcześnie cięciem cesarskim, w tym:

- II be – 18 ze wskazań elektywnych,
- II bn – 8 ze wskazań nagłych.

Ocenę stopnia dojrzałości noworodka przeprowadzono w pierwszych 12 godzinach życia w oparciu o skalę Ballard uwzględniającą kryteria morfologiczne i neurologiczne oraz siatki centylowe opracowane dla noworodków śląskich [3, 4].

Noworodki urodzone o czasie to te, które urodziły się między 38 a 42 tygodniem ciąży, a przedwcześnie to urodzone przed 37 tygodniem ciąży.

Noworodki o masie ciała (m.c.) mieszczącej się między 10 a 90 centylem uznano za noworodki z prawidłową m.c.

Kryteria włączenia noworodków do badań:

1. noworodki urodzone z prawidłową m.c. w stosunku do wieku płodowego;
2. pochodzące z ciąży o przebiegu prawidłowym;
3. noworodki z ciąży o przebiegu prawidłowym, urodzone o czasie, drogą cięcia cesarskiego ze wskazań elektywnych (stan po cięciu cesarskim, stan po odpłynięciu płynu owodniowego – bez cech zakażenia wewnątrzmacicznego, stan po leczeniu niepłodności, wskazania okulistyczne);
4. noworodki z ciąży o przebiegu prawidłowym, urodzone o czasie drogą cięcia cesarskiego ze wskazań nagłych (oddzielenie łożyska, nieprawidłowy zapis kardiogramu – zagrażająca wewnątrzmaciczna zamartwica płodu);
5. noworodki z ciąży o przebiegu prawidłowym, urodzone przedwcześnie – blisko terminu porodu, drogą cięcia cesarskiego ze wskazań elektywnych (stan po cięciu cesarskim, stan po odpłynięciu płynu owodniowego – bez cech zakażenia

wewnątrzmacicznego, stan po leczeniu niepłodności, wskazania okulistyczne);

- noworodki z ciążą o prawidłowym przebiegu, urodzone przedwcześnie – blisko terminu porodu, drogą cięcia cesarskiego ze wskazań nagłych (oddzielenie łożyska, nieprawidłowy zapis kardiogramu, wypadnięcie pępowiny i części płodu).

Badania immunologiczne obejmowały jednorazową ocenę w krwi pępowinowej odsetka i liczby limfocytów CD3+ i ich subpopulacji CD4+, CD8+, CD25+ oraz limfocytów CD19+ i ich subpopulacji CD5+, CD23+.

W badaniach zastosowano metodę znakowania krwi pępowinowej z następczą lizą krwinek czerwonych. Krew pępowinową pobieraną w ilości 1ml opracowywano do 4 godzin od jej pobrania. Krew pępowinową inkubowano przez 30 minut z odpowiednimi przeciwciałami monoklonalnymi firmy Becton-Dickinson sprzężonymi z fluorochromami: izotiocyjanianem fluoresceiny (FITC), fikoerytyną (PE) oraz PerCP, a następnie przez 10 minut z płynem lizującym FACS Lysis (Becton-Dickinson) w celu usunięcia erytrocytów. Po dwukrotnym przepłukaniu buforem PBS, znakowane komórki wprowadzono do cytometru przepływowego FACScan firmy Becton-Dickinson, rejestrując 10 000 przepływających komórek.

Wyniki badań immunologicznych opracowano za pomocą pakietu STATISTICA w wersji 6.0. Po określeniu rozkładu zmiennych testem Kołmogorowa-Smirnowa, zastosowano dla zmiennych o rozkładzie normalnym test t-Studenta, natomiast dla zmiennych o rozkładzie innym niż normalny test U Manna-Whitneya. Wyniki przedstawiono w postaci średniej i odchylenia standardowego. Jako znamienne przyjęto poziom istotności $p < 0,05$.

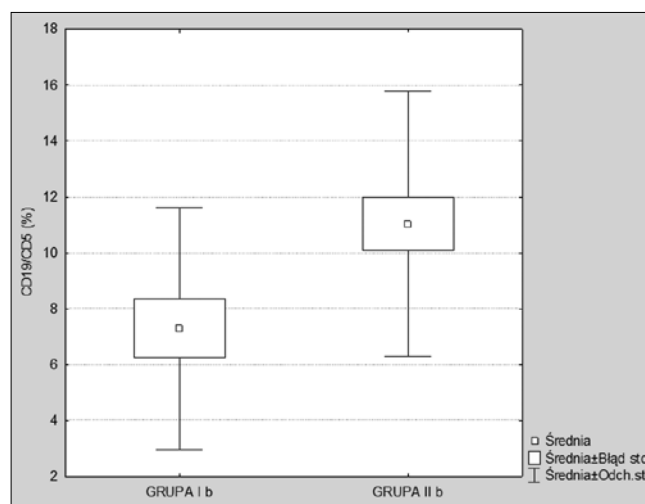
Wyniki

Podjęto próbę analizy wartości badanych wskaźników immunologicznych u noworodków w zależności od czasu rozwiązania ciąży u ich matek. Wykazano, że noworodki urodzone o czasie cięciem cesarskim mają istotnie statystycznie niższą ($p=0,04$) średnią liczbę limfocytów B CD5+ ($0,37 \pm 0,21$ G/l) w porównaniu ze średnią wartością ($0,78 \pm 0,75$ G/l) u noworodków urodzonych przedwcześnie cięciem cesarskim. (Rycina 1).

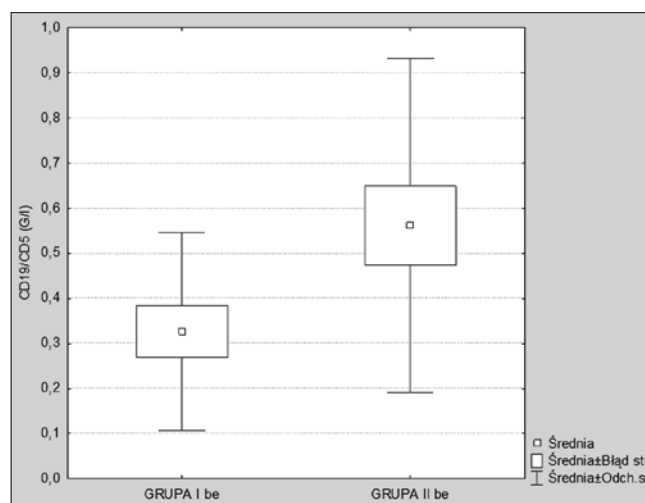
Średnia liczba limfocytów B CD5+ w grupie noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim ze wskazań elektrywnych wynosiła $0,35 \pm 0,21$ G/l i była istotnie statystycznie niższa ($p=0,03$) w porównaniu ze średnią wartością ($0,59 \pm 0,3$ G/l) w grupie noworodków urodzonych przedwcześnie cięciem cesarskim ze wskazań elektrywnych. (Rycina 2).

Analizowano również wartości badanych wskaźników immunologicznych u noworodków urodzonych przedwcześnie w zależności od sposobu ukończenia ciąży u ich matek. Stwierdzono, że średnia liczba limfocytów CD3+ ($2,69 \pm 1,43$ G/l) w grupie noworodków urodzonych przedwcześnie cięciem cesarskim ze wskazań elektrywnych była istotnie statystycznie niższa ($p=0,01$) w porównaniu ze średnią wartością ($4,92 \pm 2,92$ G/l) u noworodków urodzonych przedwcześnie cięciem cesarskim ze wskazań nagłych. (Rycina 3).

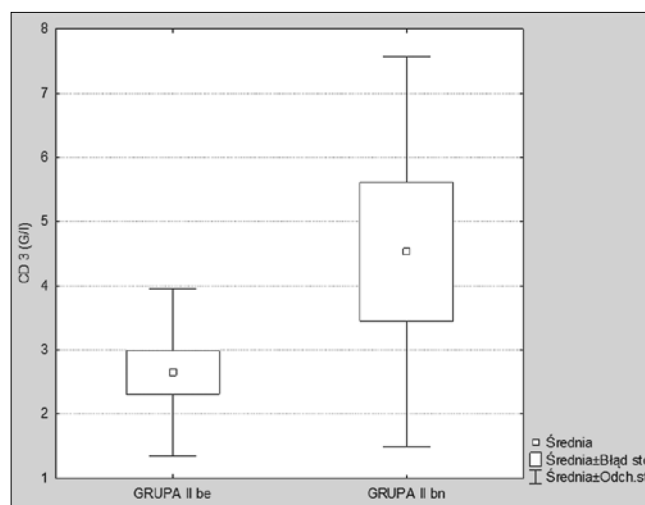
Wykazano, że w grupie noworodków urodzonych przedwcześnie cięciem cesarskim ze wskazań elektrywnych średnia liczba limfocytów CD4+ wynosiła $2,02 \pm 1,22$ G/l i była istotnie statystycznie niższa w porównaniu ze średnią wartością ($3,87 \pm 2,74$ G/l) w grupie noworodków urodzonych przedwcześnie cięciem cesarskim ze wskazań nagłych. (Rycina 4).



Rycina 1. Porównanie wartości średniego odsetka limfocytów CD19+/CD5+ we krwi pępowinowej noworodków urodzonych o czasie i przedwcześnie cięciem cesarskim.



Rycina 2. Porównanie wartości średnich liczb bezwzględnych limfocytów CD19+/CD5+ we krwi pępowinowej noworodków urodzonych o czasie i przedwcześnie cięciem cesarskim ze wskazań elektrywnych.



Rycina 3. Porównanie wartości średnich liczb bezwzględnych limfocytów CD3+ we krwi pępowinowej noworodków urodzonych przedwcześnie cięciem cesarskim ze wskazań elektrywnych i nagłych.

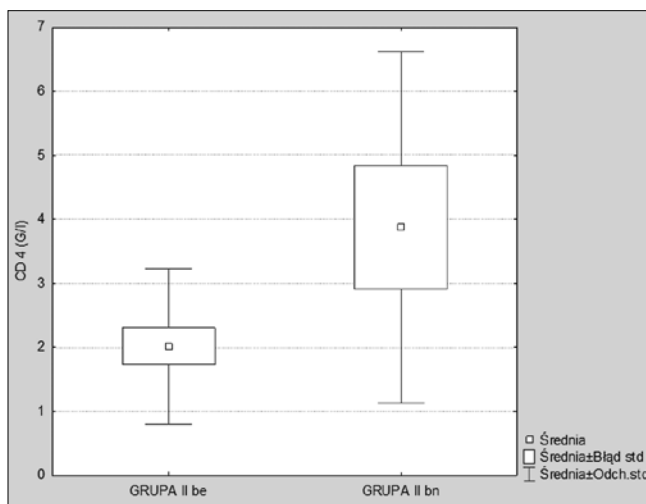
Echolc B, et al.

Średnia liczba limfocytów CD25+ u noworodków urodzonych przedwcześnie cięciem cesarskim ze wskazań elektywnych wynosiła $0,41 \pm 0,23$ G/l i była statystycznie niższa ($p=0,04$) w porównaniu ze średnią wartością ($0,76 \pm 0,62$ G/l) w grupie noworodków urodzonych przedwcześnie cięciem cesarskim ze wskazań nagłych. (Rycina 5).

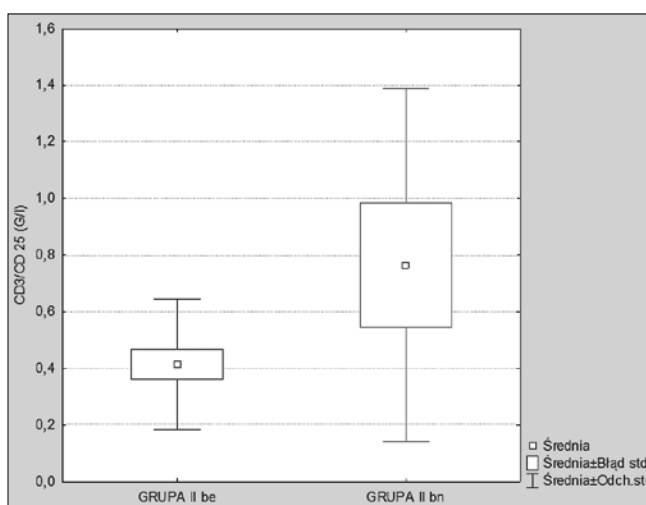
Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic w średnich wartościach pozostałych parametrów immunologicznych pomiędzy grupami.

Dyskusja

Powikłania porodu, sposób rozwiązania ciąży, okołoporodowe czynniki zagrożenia niedotlenieniem lub zakażeniem, zaburzenia wzrastania wewnątrzmacicznego płodu oraz choroby ogólnoustrojowe matki mogą osłabiać możliwości obronne noworodka. Dotyczy to przede wszystkim zmian w dystrybucji limfocytów T i B i ich subpopulacji.



Rycina 4. Porównanie wartości średnich liczb bezwzględnych limfocytów CD4+ we krwi pępowinowej noworodków urodzonych przedwcześnie cięciem cesarskim ze wskazań elektywnych i nagłych.



Rycina 5. Porównanie wartości średnich liczb bezwzględnych limfocytów CD3+/CD25+ we krwi pępowinowej noworodków urodzonych przedwcześnie cięciem cesarskim ze wskazań elektywnych i nagłych.

W badaniach własnych stwierdzono, że u noworodków urodzonych przedwcześnie cięciem cesarskim ze wskazań nagłych średnia liczba limfocytów CD3+ była istotnie wyższa, co może świadczyć o szybkim rozwoju ich odpowiedzi immunologicznej w odpowiedzi na stres związany z ciążą i porodem. Wzrost odsetka tych limfocytów może być również jednym z ważnych elementów obrony noworodka przed zakażeniami. Podobne obserwacje poczynili Karpe i wsp., którzy wykazali wzrost średniej liczby limfocytów T u noworodków z ciąż i porodów niefizjologicznych w porównaniu do noworodków bez zagrożeń [5].

Pittard i wsp. wykazali, że stres poporodowy, związany z powikłaniami porodu, obniża ogólną liczbę limfocytów z markerem CD4+ [6]. Podobnych obserwacji dokonała Banasik wykazując niewielkie różnice w wartościach bezwzględnych i odsetkowych tych limfocytów u noworodków pochodzących z porodów zabiegowych w stosunku do noworodków z porodów fizjologicznych [7]. W badaniach własnych wykazano istotny wzrost średniej liczby limfocytów CD4+ u noworodków urodzonych przedwcześnie cięciem cesarskim ze wskazań nagłych w stosunku do noworodków urodzonych przedwcześnie elektywnym cięciem cesarskim.

W przeprowadzonych badaniach wykazano również istotnie wyższą liczbę limfocytów CD25+ u noworodków urodzonych przedwcześnie cięciem cesarskim ze wskazań nagłych. Zięcina-Krawiec i wsp. stwierdzili u donoszonych noworodków obciążonych perinatalnymi czynnikami ryzyka zwiększony odsetek i liczbę limfocytów z receptorem dla interleukiny 2 [8]. Banasik wskazała, że odsetek i liczba tych komórek u noworodków urodzonych przez cięcie cesarskie ze wskazań nagłych była istotnie wyższa w porównaniu z noworodkami urodzonymi cięciem cesarskim ze wskazań elektywnych [7]. Obserwacje te potwierdzają, że samo zagrożenie perinatalne jest ważnym immunomodulatorem układu odpornościowego noworodka. Wzrost liczby tych limfocytów może być jednym z ważnych elementów obrony noworodka przed rozwojem u niego ciężkiego zakażenia. Zdaniem Rabiana-Herzog i wsp. aż 68% limfocytów B w krwi pępowinowej ma marker CD5 [9]. Zdaniem Osugi i wsp. taki układ ilościowy dowodzi niedojrzałości układu immunologicznego nawet u zdrowego noworodka bez obciążeń okołoporodowych a tym samym decyduje o niewystarczającej dla celów obronnych produkcji swoistych przeciwciał [10].

W wykonanych badaniach wykazano, że czas ukończenia ciąży wpływa istotnie na zmiany ilościowe limfocytów B CD5+. Stwierdzono istotnie statystycznie niższy odsetek tych komórek u noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim oraz cięciem cesarskim ze wskazań elektywnych w porównaniu z noworodkami urodzonymi przedwcześnie tym samym sposobem. Szczególny udział w obniżeniu liczby limfocytów B CD5+ w krwi pępowinowej noworodka może mieć wykonanie u matki cięcia cesarskiego ze wskazań elektywnych. Niekorzystne okoliczności związane z tą operacją położniczą mogą być przyczyną osłabienia układu obronnego noworodka.

Podobnych obserwacji dokonali Karpe i wsp., którzy stwierdzili zmniejszenie liczby limfocytów B z markerem CD5+ u donoszonych noworodków urodzonych cięciem cesarskim w stanie niedotlenienia [11]. Natomiast Wilson i wsp. wykazali, że niedotlenienie wewnątrzmaciczne u noworodków zarówno donoszonych, jak i urodzonych przedwcześnie powoduje zwiększenie liczby limfocytów B z markerem CD5+ we krwi pępowinowej [12]. Interesujące wyniki badań dotyczące limfocytów B CD5+

przedstawili Behrendt i wsp. u noworodków donoszonych z posocznicą. Nie wykazali wpływu tej choroby na odsetek i liczbę subpopulacji CD5+, jak również współdziałaniu w tych chorych noworodków różnych perinatalnych czynników zagrożenia na zmiany ilościowe limfocytów B CD5+ [13].

Wyniki badań własnych wskazują na istnienie pewnych fizjologicznych zmienności w składzie limfocytów B i T i ich subpopulacji we krwi pępowinowej w pierwszych dniach życia u noworodków zdrowych. Krew pępowinowa może stanowić znakomite źródło do badań przesiewowych zwłaszcza w przypadku podejrzeń o zaburzenia funkcjonowania układu odpornościowego lub do monitorowania w przypadku podejrzenia infekcji wewnątrzmacicznej. Poznanie potencjalnych czynników pogłębiających niesprawność układu immunologicznego jest szczególnie ważnym zagadnieniem. Światowa Organizacja Zdrowia podaje, że rocznie na świecie umiera 7,1 milionów niemowląt między 1 a 12 miesiącem życia z powodu infekcji wywołanych drobnoustrojami chorobotwórczymi [14].

Wnioski

1. Czas ukończenia ciąży u matki drogą cięcia cesarskiego może wiązać się z występowaniem u jej noworodka istotnych zmian ilościowych limfocytów B CD5+.
2. Cięcie cesarskie wykonane u matki z nagłych wskazań może wiązać się ze zwiększeniem średniej liczby limfocytów T, limfocytów T pomocniczych i limfocytów T aktywowanych u jej noworodka urodzonego przedwcześnie – blisko terminu porodu.

Praca zgłoszona na XXX Jubileuszowy Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego „Jakość życia kobiety - Salus feminae suprema lex esto” w dniach 16-19 września 2009 r. w Lublinie

Piśmiennictwo

1. Zeman K, Banasik M, Moroszyńska. Odrębności układu odpornościowego noworodka. Zaburzenia odporności u dzieci. Red. Zeman K. Warszawa: PZWL, 2002, 40-48.
2. Piwowarczyk M, Sikora J, Bakon I, [i wsp.]. Analiza wskazań do cięć cesarskich w materiale własnym w latach 1997-2006. *Ginekol Pol.* 2006, 77, suppl 2, 35-42.
3. Gomella T. Neonatologia. Katowice: Śląska Akademia Medyczna, 1993.
4. Baumert M, Osuch-Jaczevska R, Paprotny M, [i wsp.]. Wskaźniki biologicznego rozwoju noworodków śląskich urodzonych między 30 a 42 tygodniem ciąży. *Wiad Lek.* 1993, 46:123-126.
5. Karpe J, Behrendt J, Mazur B, [i wsp.]. Wpływ perinatalnych czynników ryzyka na limfocyty B [CD19+] i T [CD3+] oraz ich subpopulacje CD4+, CD8+ i HLA-DR+ u zdrowych donoszonych noworodków. *Postępy Neonatologii.* 2005, 1, 72-76.
6. Pittard W, Schleich D, Geddes K, [et al.]. Newborn lymphocyte subpopulations: the influence of labor. *Am J Obstet Gynecol.* 1989, 160, 151-154.
7. Banasik M. Znaczenie diagnostyczne antygenów różnicowania oraz testów czynnościowych limfocytów i granulocytów obojętnochnych krwi pępowinowej. *Rozprawa doktorska.* Łódź: Wojskowa Akademia Medyczna, 1995.
8. Krawiec-Zięcina B, Mazur B, Godula-Stuglik U, [i wsp.]. Wpływ perinatalnych czynników ryzyka na liczbę limfocytów T i komórek CD25+ u noworodków donoszonych. *Ginekol Pol.* 2001, 71, 550-558.
9. Rabian-Herzog C, Lasage S, Gluckman W, [et al.]. Characterization of lymphocytes subpopulation in cord blood. *J Hematother.* 1993, 2, 255-257.
10. Osugi Y, Hara J, Kurahashi H, et al.]. Age-related changes in surface antigens on peripheral lymphocytes of healthy children. *Clin Exp Immunol.* 1995, 100: 543-548.
11. Karpe J, Behrendt J, Mazur B, [i wsp.]. Limfocyty B[CD19+] i ich subpopulacje CD5+ i CD23+ u zdrowych noworodków donoszonych z ciąż i porodów niezjologicznych. *Pediatr Pol.* 2005, 80, 734-739.
12. Wilson M, Rosen F, Schlossman S, [et al.]. Ontogeny of human T and B lymphocytes during stressed and normal gestation: phenotypic analysis of umbilical cord lymphocytes from term and preterm infants. *Clin Immunol Immunopathol.* 1985, 37, 1-12.
13. Godula-Stuglik U, Mazur B, Mikusz G, [et al.]. Lymphocyte subpopulations in full-term septic neonates. *Pediatr Int.* 1999, 41, 500-505.
14. Veilla P, Rugeles M, Chougnat C. Defective antigen-presenting cell function in human neonates. *Clin Immunol.* 2006, 121, 251-259.

I KOMUNIKAT

SEKCJA GINEKOLOGII DZIECIĘCEJ I DZIEWCZĘCEJ PTG

oraz

SEKCJA ENDOKRYNOLOGII GINEKOLOGICZNEJ PTG

zapraszają na

SYMPOZJUM NAUKOWO-SZKOLENIOWE

„Aktualne problemy w ginekologii wieku rozwojowego”

16-17 kwietnia 2010 roku w Wiśle

Tematyka Sympozjum:

- PMS/PMDD – problem rzadko zauważany, diagnozowany i leczony
- Przewlekły ból miednicy mniejszej w ginekologii dziecięcej i dziewczęcej
- Problemy ginekologiczne dziewcząt uprawiających aktywnie sport oraz dziewcząt niepełnosprawnych
- Skrining cytologiczny w ginekologii dziecięcej i dziewczęcej
- Rola szczepień w profilaktyce pierwotnej zakażeń wirusem HPV
- Zaburzenia okresu pokwitania u dziewcząt
- Zaburzenia miesiączkowania u młodocianych
- Edukacja seksualna w praktyce ginekologicznej
- Problem dziecka molestowanego seksualnie
- Zagrożenia prawne w ginekologii dziecięcej i dziewczęcej
- Otyłość wieku dziecięcego
- Cukrzyca i zaburzenia endokrynologiczne
- Problemy higieny osobistej wieku dojrzewania

W dniu 15 kwietnia 2010 odbędą się warsztaty:

- Problem dziecka molestowanego seksualnie
- Edukacja seksuologiczna
- Badanie USG w ginekologii dziecięcej i dziewczęcej

Adres Głównego Komitetu Organizacyjnego:

Katedra Zdrowia Kobiety
Śląski Uniwersytet Medyczny
40-752 Katowice, ul. Medyków 12
tel. (032) 20 88 629

adres e-mail: cor111@poczta.onet.pl
www.kzk.medforum.pl

Wskazania nagłe lub elektywne do cięcia cesarskiego a wybrane elementy układu immunologicznego u noworodków urodzonych o czasie

Emergency and elective cesarean section and selected elements of immunological system of full-term neonates

Echolc Bożena¹, Mazur Bogdan¹, Królak-Olejniki Barbara²,
Kwiecińska Marta¹, Karpe Jacek³, Grzonka Dariusz²

¹ Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii w Zabrze

² Katedra i Oddział Kliniczny Ginekologii, Perinatologii i Neonatologii w Zabrze

³ Katedra Pediatrii, Klinika Intensywnej Patologii Noworodka w Zabrze, SUM w Katowicach

Streszczenie

Cel pracy: Ustalenie zależności między wskazaniami do cięcia cesarskiego a liczbą i odsetkiem limfocytów T i B i ich subpopulacji u zdrowych, donoszonych noworodków.

Materiał i metody: Badaniami objęto 43 noworodki zdrowe urodzone w latach 1998 - 2003 w Klinice Perinatologii i Ginekologii Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrze.

Uwzględniając operacyjny sposób rozwiązania ciąży, przebadano grupę 43 noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim (Ib), w tym: 25 noworodków – ze wskazań elektywnych (Ibe) i 18 ze wskazań nagłych (Ibn). Badania immunologiczne obejmowały jednorazową ocenę w krwi pępowinowej odsetka i liczby limfocytów T i B i ich subpopulacji. W badaniach zastosowano metodę znakowania krwi pępowinowej z następczą lizą krwinek czerwonych.

Wyniki: Badania wykazały, że średnia liczba limfocytów CD3+, CD23+, CD25+ oraz średni odsetek i średnia liczba limfocytów CD8+ u noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim ze wskazań elektywnych były istotnie statystycznie niższe niż u noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim z nagłych wskazań.

Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic w średnich wartościach pozostałych parametrów immunologicznych pomiędzy badanymi grupami.

Wnioski: Cięcie cesarskie wykonane u matki z nagłych wskazań może sprzyjać zwiększeniu średniej liczby limfocytów T, limfocytów T cytotoksyczno-supresorowych, limfocytów T aktywowanych i limfocytów B CD23 u noworodków urodzonych o czasie.

Słowa kluczowe: noworodek / krew pępowinowa / ciąża / limfocyty T / limfocyty B /

Adres do korespondencji:

Barbara Królak-Olejniki
Katedra i Oddział Kliniczny Ginekologii, Perinatologii i Neonatologii w Zabrze
41-800 Zabrze, Wolności 232
tel. 032 3704234
e-mail: olejniki.basia@gmail.com

Otrzymano: 10.08.2009
Zaakceptowano do druku: 25.09.2009

Abstract

Aim of study: To define a relationship between emergency and elective indications for cesarean section and quantitative changes of percentage and quantity of T and B lymphocytes and their subpopulations in healthy full-term neonates.

Material and Methods: The study included 43 healthy neonates born in the years 1998 – 2003 in the Department of Perinatology and Gynecology of Silesian Medical University in Zabrze, Taking into account operative delivery, a group of 43 full-term neonates born by cesarean section were examined, including 25 neonates with elective indications [Ibe] and 18 with emergency indications (Ibn). Immunological studies included evaluation of the percentage of T and B lymphocytes and of their subpopulations in umbilical blood. Our study applied a method of umbilical blood sampling with the following red blood cells lysis.

Results: The study showed that mean number of CD3+, CD23+, CD25+ lymphocytes and mean percentage and number of CD8+ lymphocytes in full-term neonates born by elective Cesarean was statistically significantly lower than in neonates born by emergency Cesarean section. No statistically significant differences were found in mean values of other parameters among the study groups.

Conclusions: Cesarean section performed in a mother with emergency indications can favor an increase of mean quantity of T lymphocytes, cytotoxic – suppressor T lymphocytes, activated T lymphocytes, B CD23 lymphocytes in full-term neonates.

Key words: **neonate / umbilical blood / pregnancy / T lymphocytes / B lymphocytes /**

Wstęp

Dojrzały noworodek posiada wszystkie narządy immunokompetentne oraz limfocyty T niezbędne do wczesnej i późnej odpowiedzi immunologicznej. Kształtowanie mechanizmów obronnych noworodka zależy od uwarunkowań genetycznych, ale przede wszystkim od czynników środowiskowych. Istotne znaczenie ma obecność immunokompetentnych limfocytów, wzajemne oddziaływanie międzykomórkowe oraz kontakt układu odpornościowego z obcym antygenem. Odporność noworodka zależy również od wydolności łożyska, przebiegu ciąży i czasu jej trwania [1].

Powikłania porodu, sposób rozwiązania ciąży, okoloporodowe czynniki zagrożenia niedotlenieniem lub zakażeniem, zaburzenia wzrastania wewnątrzmacicznego płodu oraz choroby ogólnoustrojowe matki mogą osłabiać możliwości obronne noworodka. Dotyczy to przede wszystkim zmian w dystrybucji limfocytów T i B i ich subpopulacji. Jest to powodem, według Lewisa i Wilsona, ciężkiego przebiegu zakażeń ze skłonnością do uogólniania i złego rokowania w przebiegu leczenia [2].

Cel pracy

Przedmiotem pracy było ustalenie zależności między wskazaniami do cięcia cesarskiego a liczbą i odsetkiem limfocytów T i B i ich subpopulacji u zdrowych urodzonych o czasie noworodków.

Materiał i metody

Badaniami objęto 43 noworodki zdrowe urodzone w latach 1998 - 2003 w Klinice Perinatologii i Ginekologii Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrze. Uwzględniając operacyjny sposób rozwiązania ciąży, przebadano grupę 43 noworodków urodzonych cięciem cesarskim (Ib), w tym: 25 ze wskazań elektrywnych (Ibe) i 18 ze wskazań nagłych (Ibn). Ocenę stopnia dojrzałości noworodka przeprowadzono w pierwszych 12 godzinach życia w oparciu o skalę Ballard uwzględniającą kryteria morfologiczne i neurologiczne oraz siatki centylowe opracowane dla noworodków śląskich [3, 4].

Noworodki urodzone o czasie to te, które urodziły się między 38 a 42 tygodniem ciąży. Noworodki o masie ciała (m.c.) mieszczącej się między 10 a 90 centylem uznano za noworodki z prawidłową m.c.

Kryteria włączenia noworodków do badań:

1. noworodki urodzone z prawidłową m.c. w stosunku do wieku płodowego, pochodzące z ciąży o przebiegu prawidłowym;
2. noworodki z ciążą o przebiegu prawidłowym, urodzone o czasie, drogą cięcia cesarskiego ze wskazań elektrywnych (stan po cięciu cesarskim, stan po odpłynięciu płynu owodniowego, stan po leczeniu niepłodności, wskazania okulistyczne);
3. noworodki z ciążą o przebiegu prawidłowym, urodzone o czasie drogą cięcia cesarskiego ze wskazań nagłych (oddzielenie łożyska, nieprawidłowy zapis kardiogramu – zagrażająca wewnątrzmaciczna zamartwica płodu).

Badania immunologiczne obejmowały jednorazową ocenę w krwi pępowinowej odsetka i liczby limfocytów CD3+ i ich subpopulacji CD4+, CD8+, CD25+ oraz limfocytów CD19+ i ich subpopulacji CD5+, CD23+.

W badaniach zastosowano metodę znakowania krwi pępowinowej z następczą lizą krwinek czerwonych. Krew pępowinową pobieraną w ilości 1 ml opracowywano do 4 godzin od jej pobrania. Krew pępowinową inkubowano przez 30 minut z odpowiednimi przeciwciałami monoklonalnymi firmy Becton-Dickinson sprzężonymi z fluorochromami: izotiocyanianem fluoresceiny (FITC), fikoerytyną (PE) oraz PerCP, a następnie przez 10 minut z płynem lizującym FACSLysis (Becton-Dickinson) w celu usunięcia erytrocytów. Po dwukrotnym przepłukaniu buforem PBS, znakowane komórki wprowadzono do cytometru przepływowego FACScan firmy Becton-Dickinson rejestrując 10 000 przepływających komórek.

Wyniki badań immunologicznych opracowano za pomocą pakietu STATISTICA w wersji 6.0. Wyniki przedstawiono w postaci średniej i odchylenia standardowego. Jako znamienne przyjęto poziom istotności $p < 0,05$.

Wskazania nagłe lub elektywne do cięcia cesarskiego...

Wyniki

Analizowano wartości badanych wskaźników immunologicznych u noworodków urodzonych o czasie w zależności od sposobu ukończenia ciąży u matek. Badania wykazały, że noworodki urodzone o czasie cięciem cesarskim ze wskazań elektywnych mają istotnie statystycznie niższą ($p=0,04$) średnią liczbę limfocytów CD3+ ($2,65\pm 1,31G/l$) w porównaniu ze średnią wartością ($4,53\pm 3,04G/l$) u noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim ze wskazań nagłych. (Rycina 1).

Stwierdzono istotnie statystycznie niższą ($p=0,0003$) średnią liczbę limfocytów CD8+ ($0,92\pm 0,45G/l$) w grupie noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim ze wskazań elektywnych w porównaniu z grupą noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim ze wskazań nagłych, w której średnia wartość wynosiła $2,41\pm 1,20G/l$. (Rycina 2).

Średnia wartość odsetka limfocytów CD8+ ($17,60\pm 6,96\%$) w grupie noworodków urodzonych planowym cięciem cesarskim ze wskazań elektywnych była istotnie statystycznie niższa ($p=0,01$) w porównaniu ze średnią wartością ($25,75\pm 6,04\%$) w grupie noworodków urodzonych planowym cięciem cesarskim ze wskazań nagłych. (Rycina 3).

Wykazano, że noworodki urodzone o czasie cięciem cesarskim ze wskazań elektywnych mają istotnie statystycznie niższą ($p=0,004$) średnią liczbę limfocytów CD25+ ($0,33\pm 0,18G/l$) w porównaniu ze średnią wartością ($0,79\pm 0,49G/l$) u noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim ze wskazań nagłych. (Rycina 4).

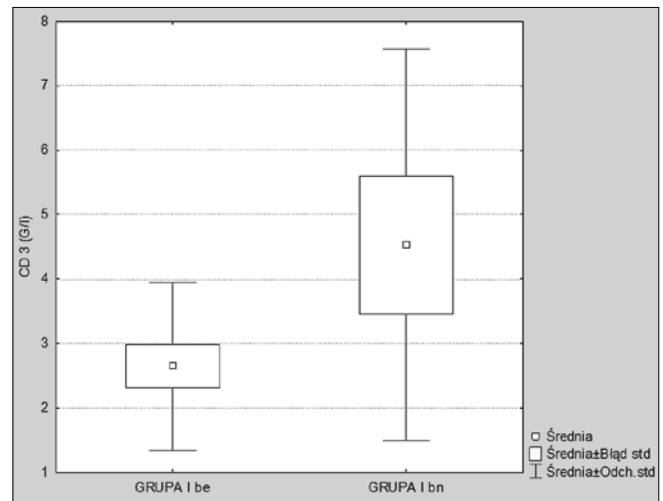
Średnia liczba limfocytów B CD23+ u noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim ze wskazań elektywnych wynosiła $0,94\pm 0,51G/l$ i była istotnie statystycznie niższa ($p=0,002$) w porównaniu ze średnią wartością ($2,44\pm 1,14G/l$) u noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim ze wskazań nagłych. (Rycina 5).

Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic w średnich wartościach pozostałych parametrów immunologicznych pomiędzy badanymi grupami.

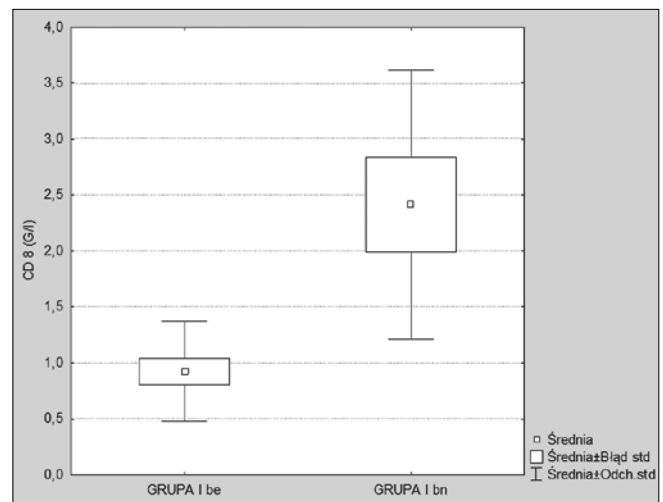
Dyskusja

Doniesienia dotyczące wartości bezwzględnej i odsetka limfocytów T i B nie są jednoznaczne. Zdrowe noworodki urodzone o czasie siłami natury wykazują w pierwszych godzinach życia większą niż u osób dorosłych liczbę leukocytów oraz limfocytów we krwi pępowinowej i żyłnej obwodowej. Ulega ona systematycznemu zmniejszeniu w pierwszym tygodniu życia.

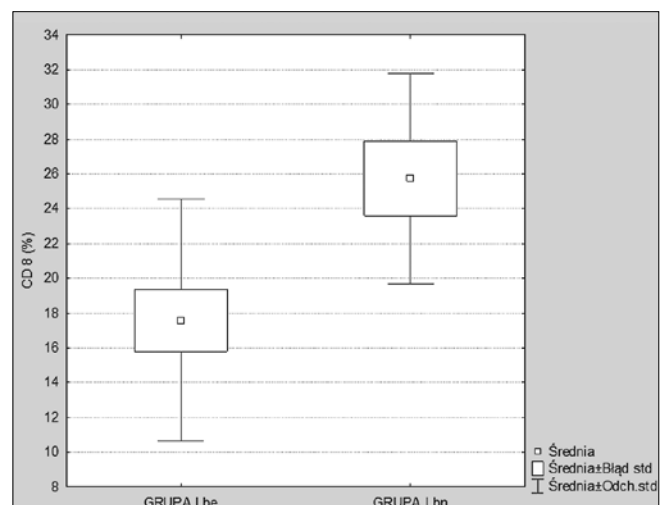
Hasan i wsp. wykazali, że noworodki urodzone siłami natury mają wyższą liczbę krwinek białych niż urodzone cięciem cesarskim [5]. Różnice te tłumaczyli stymulacją układu immunologicznego przez stres fizyczny i okresową hipoksję, która jest częściej stwierdzana i trwa dłużej podczas porodu siłami natury niż w czasie cięcia cesarskiego. Autorzy ci podkreślają, że sposób porodu oraz wskazania do porodów zabiegowych powinny być brane pod uwagę przy każdej ocenie elementów morfotycznych krwi u noworodków. W badaniach własnych stwierdzono, że u noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim ze wskazań nagłych, średnia liczba limfocytów CD3+ była istotnie wyższa, co może świadczyć o szybkim rozwoju ich odpowiedzi immunologicznej w odpowiedzi na stres związany z ciążą i porodem. Wzrost odsetka tych limfocytów może być również jednym z ważnych elementów obrony noworodka przed zakażeniami.



Rycina 1. Porównanie wartości średnich odsetka limfocytów CD3+ we krwi pępowinowej noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim ze wskazań elektywnych i nagłych.



Rycina 2. Porównanie wartości średnich liczb bezwzględnych limfocytów CD8+ we krwi pępowinowej noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim ze wskazań elektywnych i nagłych.



Rycina 3. Porównanie wartości średnich odsetka limfocytów CD8+ we krwi pępowinowej noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim ze wskazań elektywnych i nagłych.

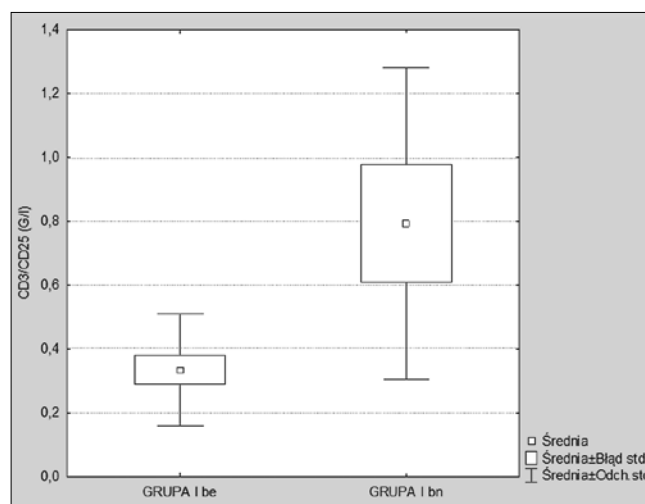
Podobne wyniki badań uzyskali Karpe i wsp. wykazali wzrost średniej liczby limfocytów T u noworodków z ciąży i porodów nefizjologicznych w porównaniu do noworodków bez zagrożeń [6]. Natomiast Zięcina-Krawiec i wsp. wykazali wzrost odsetka limfocytów T u noworodków donoszonych bez zakażeń, lecz obciążonych infekcyjnym czynnikiem okołoporodowym, czyli urodzonych po przedwczesnym odpłynięciu płynu owodniowego [7]. Nie potwierdzili z kolei istotnego wpływu nieinfekcyjnych czynników ryzyka okołoporodowego (konieczność wykonania cięcia cesarskiego, gestoza, niedotlenienie noworodka o różnej etiologii) na odsetek i liczbę limfocytów T.

Wyniki wyżej wymienionych badań różnią się od obserwacji dokonanych przez Banasik, która wykazała, że odsetek limfocytów T we krwi pępowinowej noworodków nie jest zależny od sposobu zakończenia ciąży. Zaobserwowała natomiast, że odsetek tych limfocytów we krwi żyłnej istotnie wzrasta w 3 dobie życia noworodków urodzonych zarówno w stanie dobrym, jak i z cechami niedotlenienia okołoporodowego, wynikającego z patologii ciąży i porodu [8].

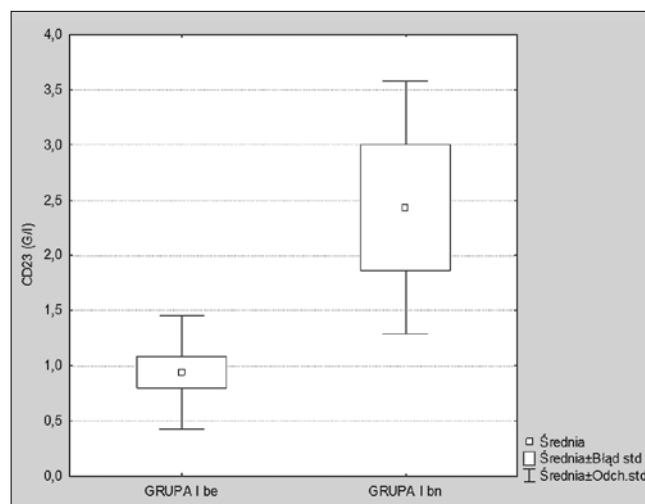
Limfocyty CD8+ odpowiedzialne są za zdolności cytotoksyczne i supresorowe limfocytów T, umożliwiają reakcję cytolizy komórek uszkodzonych lub zainfekowanych. Zdaniem Chabra i wsp. liczba limfocytów CD8+ podobnie jak całkowita liczba krwinek białych i subpopulacji CD4+ uwarunkowana jest wiekiem ciążowym noworodka urodzonego przedwcześnie, im jest on bardziej niedojrzały tym posiada mniejszą liczbę tych komórek [9]. W badaniach własnych wykazano obniżenie odsetka i liczby limfocytów CD8+ u noworodków urodzonych cięciem cesarskim ze wskazań elektrycznych. Natomiast Królak-Olejnik i wsp. badając subpopulacje limfocytów krwi pępowinowej noworodków urodzonych o czasie odnotowali wzrost odsetka limfocytów CD8+ u noworodków urodzonych siłami natury w stosunku do urodzonych drogą cięcia cesarskiego ze wskazań elektrycznych [1]. Można przypuszczać, że poród naturalny jest czynnikiem aktywującym zmiany w liczbie i składzie komórek immunokompetentnych, które nie są obserwowane we krwi pępowinowej noworodków urodzonych elektrycznym cięciem cesarskim.

Limfocyty T u noworodka posiadają zdolność ekspresji genów dla interleukiny 2, jej receptorów oraz wytwarzania tej cytokiny. Podstawową funkcją interleukiny w odpowiedzi immunologicznej jest pobudzenie reakcji odporności komórkowej i humoralnej. Jej końcowy efekt ujawnia się dopiero po połączeniu ze swoistym receptorem występującym tylko na aktywowanych limfocytach T i B.

Badania dotyczące liczby komórek CD25+ u noworodków są nieliczne. Według Hodge i wsp. oznaczanie cząsteczki CD25+ razem z CD69, CD45RA i CD45RO stanowi najbardziej czuły i specyficzny marker w przebiegu zakażeń u noworodków [10]. Behrendt i wsp. potwierdzili istotnie większą pulę CD25+ u donoszonych eutroficznych noworodków, u których doszło do rozwoju posocznicy gronkowcowej w porównaniu ze zdrowymi noworodkami wskazując jednocześnie na przydatność oznaczania tej subpopulacji w ocenie zmian immunologicznych w przebiegu ciężkiego zakażenia [11]. Zięcina-Krawiec i wsp. stwierdzili u donoszonych noworodków obciążonych perinatalnymi czynnikami ryzyka zwiększony odsetek i liczbę limfocytów z receptorem dla interleukiny 2 [7]. W przeprowadzonych badaniach wykazano istotnie wyższą liczbę limfocytów CD25+ u noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim ze wskazań nagłych.



Rycina 4. Porównanie wartości średnich liczb bezwzględnych limfocytów CD8+/CD25+ we krwi pępowinowej noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim ze wskazań elektrycznych i nagłych.



Rycina 5. Porównanie wartości średnich liczb bezwzględnych limfocytów CD19+/CD23+ we krwi pępowinowej noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim ze wskazań elektrycznych i nagłych.

Obserwacje te potwierdzają, że samo zagrożenie perinatalne jest ważnym immunomodulatorem układu odpornościowego noworodka. Stres porodowy, niedotlenienie powodują wzrost stężenia kortyzolu i beta-endorfin we krwi, co stymuluje mechanizmy obronne. Wzrost liczby tych limfocytów może być jednym z ważnych elementów obrony noworodka przed rozwojem u niego ciężkiego zakażenia.

Hannet i wsp. ponad 10 lat temu stwierdzili, że zdrowe donoszone noworodki mają odsetek limfocytów B podobny do wartości uzyskanych u osób z dojrzałym układem immunologicznym [12]. W badaniach własnych wykazano natomiast, że czas i sposób rozwiązania ciąży wpływa istotnie na zmiany liczby i odsetka limfocytów B CD23+. U noworodków urodzonych o czasie cięciem cesarskim ze wskazań nagłych wystąpiło zwiększenie liczby tych komórek. Można przypuszczać, że zwiększenie liczby limfocytów B CD23+ mogło być spowodowane koniecznością ukończenia ciąży porodem zabiegowym oraz na skutek działania

Wskazania nagłe lub elektywne do cięcia cesarskiego...

chemicznego środka znieczulającego podawanego matce w czasie planowanego cięcia cesarskiego. Jego efektywność można porównać z działaniem aktywującym niektórych mitogenów, prowadzącym do zwiększenia ekspresji CD23+ na ludzkich komórkach B. Podobne wyniki uzyskali Karpe i wsp. [13]. Autorzy ci wykazali, że efektem porodu przeprowadzonego w znieczuleniu ogólnym są istotne zmiany ilościowe w subpopulacji limfocytów B CD23+. U noworodków urodzonych planowym cięciem cesarskim nastąpiło zwiększenie odsetka tych komórek w porównaniu z noworodkami urodzonymi siłami natury. Wykazali również u nich wyższy odsetek limfocytów B CD23+ niż u noworodków urodzonych cięciem cesarskim z nagłych wskazań. Noworodki urodzone cięciem cesarskim z nagłych wskazań były obciążone przed i w okresie porodowym dodatkowymi czynnikami szkodliwymi, jak niedotlenienie, niedokrwienie czy wstrząs. Te groźne powikłania mogły prowadzić do uszkodzenia OUN, wątroby, nerek czy płuc noworodka, ale również mogły blokować właściwe mechanizmy immunologiczne związane z limfocytami noworodka w zakresie wartości odsetka i liczby limfocytów B CD23+. Z przeprowadzonych badań wynika, że krew pępowinowa może stanowić znakomite źródło do badań przesiewowych, zwłaszcza w przypadkach podejrzeń o zaburzenia funkcjonowania układu odpornościowego lub jako punkt wyjścia do monitorowania w przypadku podejrzenia zakażenia.

Objawy zaburzeń układu odpornościowego noworodka mogą być początkowo niewielkie i nieswoiste. Szybkie ujawnienie wrodzonych lub nabytych w czasie ciąży nieprawidłowości tego układu pozwala na precyzyjne wyselekcjonowanie noworodków szczególnie zagrożonych.

Współczesne techniki badawcze pozwalają określić stopień dojrzałości limfocytów i pośrednio ich udział w procesach immunologicznych. Zastosowanie cytometrii przepływowej umożliwia szybką ocenę ilościową i jakościową limfocytów jako wstęp do oceny odporności komórkowej i humoralnej noworodków [14].

Wnioski

Cięcie cesarskie wykonane u matki z nagłych wskazań może sprzyjać zwiększeniu średniej liczby limfocytów T, limfocytów T cytotoksyczno-supresorowych, limfocytów T aktywowanych i limfocytów B CD23 u noworodków urodzonych o czasie.

Praca zgłoszona na XXX Jubileuszowy Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego „Jakość życia kobiety - Salus feminae suprema lex esto” w dniach 16-19 września 2009 r. w Lublinie

Piśmiennictwo

- Królak-Olejnik B, Mazur B. Sposób i czas rozwiązania ciąży a subpopulacje limfocytów krwi pępowinowej noworodków. *Ginekol Pol.* 2001, 71, 566-570.
- Lewis D, Wilson Ch. Developmental Immunology and Role of Dost defenses in Fetal and Neonatal susceptibility to infection. In: *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant. Ed. Remington J, Klein J, Sanders WB. Comp. wyd V, 2001, 25-138.*
- Gomella T. *Neonatalogia.* Katowice: Śląska Akademia Medyczna, 1993.
- Baumert M, Osuch-Jaczevska R, Paprotny M, [i wsp.]. Wskaźniki biologicznego rozwoju noworodków śląskich urodzonych między 30 a 42 tygodniem ciąży. *Wiad Lek.* 1993, 46, 123-126.
- Hasan R, Inoue S, Banerjee A. Higher white blood cell counts and band forms in newborns delivered vaginally compared with those delivered by cesarean section., *Am J Clin Pathol.* 1993, 100, 116-118.
- Karpe J, Behrendt J, Mazur B, [i wsp.]. Wpływ perinatalnych czynników ryzyka na limfocyty B (CD19+) i T (CD3+) oraz ich subpopulacje CD4+, CD8+ i HLA-DR+ u zdrowych donoszonych noworodków. *Postępy Neonatologii.* 2005, 1, 72-76.
- Krawiec-Zięcina B, Mazur B, Godula-Stuglik U, [i wsp.]. Wpływ perinatalnych czynników ryzyka na liczbę limfocytów T i komórek CD25+ u noworodków donoszonych. *Ginekol Pol.* 2001, 71, 550-558.
- Banasik M. Znaczenie diagnostyczne antygenów różnicowania oraz testów czynnościowych limfocytów i granulocytów obojętnochłonnych krwi pępowinowej. *Rozprawa doktorska. Łódź: Wojskowa Akademia Medyczna, 1995.*
- Chabra S, Cottrill C, Rayene MK, [et al.]. Lymphocyte subsets in cord blood of preterm infants: effect of antenatal steroids. *Biol Neonate.* 1998, 74, 200-207.
- Hodge G, Hodge S, Han P, [et al.]. Multiple leukocyte activation markers to detect neonatal infection. *Clin Exp Immunol.* 2004, 135, 125-129.
- Behrendt J, Karpe J, Mazur B, [i wsp.]. Zmiany ilościowe CD3+, CD4+, CD8+ i HLA-DR+ oraz komórek CD25+ u eutroficznych noworodków donoszonych z posocznica gronkowocowa. *Przegl Lek.* 2002, 59, Supl 1, 50-53.
- Hannet I, Erkeller-Yuksel F, Lydyard P, [et al.]. Developmental and maturational changes in human blood lymphocyte subpopulations. *Immunol Today.* 1992, 13, 215-218.
- Karpe J, Behrendt J, Mazur B, [i wsp.]. Limfocyty B(CD19+) i ich subpopulacje CD5+ i CD23+ u zdrowych noworodków donoszonych z ciąży porodów niefizjologicznych. *Pediatr Pol.* 2005, 80, 734-739.
- Królak-Olejnik B, Mazur B. Ocena limfocytów CD3+/TCR $\alpha\beta$ i CD3+/TCR $\gamma\delta$ we krwi pępowinowej noworodków. *Med Wieku Rozwoj.* 2003, 7, suppl 1, 351-358.