

Szybka ocena stężenia IL-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej w zagrażającym porodzie przedwczesnym

Rapid assessment of the IL-6 cervico-vaginal fluid level in threatening preterm labor

Rzepka Rafał, Torbé Andrzej, Czajka Ryszard, Kwiatkowski Sebastian, Bartoszek Małgorzata, Cymbaluk Aneta

Klinika Położnictwa i Ginekologii, Pomorska Akademia Medyczna, Szczecin

Streszczenie

Cel pracy: Celem pracy była ocena stężeń IL-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej za pomocą szybkiego ilościowego testu diagnostycznego u ciężarnych z zagrażającym porodem przedwczesnym przed i po leczeniu tokolitycznym.

Materiał i metody: Do badań zakwalifikowano 67 pacjentek z ciążą pojedynczą, pomiędzy 24 a 36 tygodniem jej trwania. Grupę badaną stanowiło 35 ciężarnych przyjętych do Kliniki z objawami zagrażającego porodu przedwczesnego. Grupę kontrolną stanowiły 32 ciężarne pomiędzy 24 a 36 tygodniem ciąży o niepowikłanym przebiegu. Stężenie IL-6 oceniano bezpośrednio po pobraniu materiału szybką, ilościową metodą spektrofotometryczną.

Wyniki: W grupie badanej stwierdzono znamienne wyższe wartości IL-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej (458pg/mL vs 123pg/mL; $p < 0,05$). Po dwóch dobach leczenia tokolitycznego zaobserwowano wysoce istotne statystycznie obniżenie wartości IL-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej.

Wnioski: Przytóżkowy, ilościowy spektrofotometryczny test diagnostyczny pozwala na szybką, powtarzalną ocenę stężeń IL-6 w kompartmentcie pochwowym w celu określenia ryzyka wystąpienia porodu przedwczesnego oraz w celu monitorowania leczenia tokolitycznego.

Słowa kluczowe: poród przedwczesny / interleukina 6 / cytokiny /

Summary

Objectives: The aim of the study was to check the cervico-vaginal fluid IL-6 levels using rapid, quantitative test in patients with threatening preterm labor, before and after tocolytic treatment.

Material and methods: Sixty seven singular pregnant women, between 24 and 36 weeks of gestation, were included into the clinical trial. 35 women who were admitted to the Department due to clinical symptoms of threatened preterm labor formed the study group. 32 women between 24 and 36 gestational week, with uncomplicated pregnancy, formed the control group. Levels of IL-6 were measured just after material collection, using fast, quantitative spectrophotometric test.

Adres do korespondencji:

Rafał Rzepka
Klinika Położnictwa i Ginekologii, Pomorska Akademia Medyczna
70-111 Szczecin, ul. Powstańców Wielkopolskich 72
rafalrz@sci.pam.szczecin.pl
e-mail: rafalrz@sci.pam.szczecin.pl

Otrzymano: 01.07.2009
Zaakceptowano do druku: 25.08.2009

Rzepka R, et al.

Results: The cervico-vaginal IL-6 level was higher in the study group (458pg/mL vs 123pg/mL; $p < 0.05$). A significant reduction of cervico-vaginal IL-6 level was observed after two days of tocolytic treatment.

Conclusion: A bedside, quantitative spectrophotometric method allows for a quick and repeatable assessment of cervico-vaginal IL-6 levels to establish the risk of preterm labor, as well as enables the monitoring of the effectiveness of tocolytic treatment.

Key words: **premature labor / interleukin 6 / cytokines /**

Wstęp

Poród przedwczesny stanowi główną przyczynę umieralności okołoporodowej oraz zachorowalności noworodków. Kluczową rolę w jego wyzwalaniu odgrywiają prozapalne cytokiny, głównie IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-6, IL-8 i TNF alfa, które stymulują produkcję działających naskurczowo prostaglandyn [1, 2, 3, 4, 5]. IL-6 uważana jest za jedną z głównych cytokin związanych z zakażeniem, w tym również z zakażeniem wewnątrzmacicznym w jego subklinicznej fazie [6, 7].

Wykazano również, że IL-6 oznaczana w różnych płynach ustrojowych może być wykorzystana jako marker porodu przedwczesnego [8, 9, 10]. Wartość testu w diagnostyce i predykcji porodu przedwczesnego musi uwzględniać jego przydatność diagnostyczną, dostępność kliniczną, możliwość szybkiego wykonania i szybkiego uzyskania wyniku oraz koszty wykonania [11]. Wykorzystane dotychczas w badaniach zestawy laboratoryjne do oznaczeń cytokin oparte były o metodę ELISA. Charakteryzowały się one wysoką czułością, jednakże stosowana metodyka oznaczeń nie umożliwiała szybkiego otrzymania wyniku, w związku z czym jej praktyczne znaczenie było niewielkie.

Cel pracy

Celem pracy była ocena stężeń IL-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej u ciężarnych z zagrażającym porodem przedwczesnym przed i po leczeniu tokolitycznym za pomocą szybkiego ilościowego testu diagnostycznego.

Materiał i metody

Do badań zakwalifikowano łącznie 67 pacjentek z ciążą pojedynczą, pomiędzy 24 a 36 tygodniem jej trwania, które w latach 2006-2008 hospitalizowane były w Klinice Położnictwa i Ginekologii PAM. Grupę badaną stanowiło 35 ciężarnych przyjętych do Kliniki z objawami zagrażającego porodu przedwczesnego pod postacią, udokumentowanej w zapisie tokograficznym, czynności skurczowej macicy. Za zagrożenie porodem przedwczesnym przyjęto skurcze macicy utrzymujące się przez co najmniej jedną godzinę i powtarzające się co 10 minut lub częściej, którym towarzyszyły zmiany części pochwowej szyjki macicy w postaci jej skracania i rozwierania się kanału stwierdzone badaniem palpacyjnym. U wszystkich ciężarnych z tej grupy bezpośrednio po ustaleniu rozpoznania wdrożono leczenie tokolityczne nifedypiną lub fenoterolem. Grupę kontrolną stanowiły 32 ciężarne pomiędzy 24 a 36 tygodniem ciąży o niepowikłanym przebiegu.

Celem oceny stężenia IL-6 w grupie badanej materiał do badań pobierano dwukrotnie: w chwili ustalenia rozpoznania zagrażającego porodu przedwczesnego oraz po dwóch dobach leczenia tokolitycznego, natomiast w grupie kontrolnej – jednorazowo, w trakcie badania kontrolnego w przebiegu ciąży.

Tabela I. Charakterystyka badanej populacji.

	Grupa badana n=35	Grupa kontrolna n=32	p
Wiek ciążowy (tygodnie) X ± SD	27,3 ± 4,2	28,4 ± 5,1	NS
Wiek ciężarnych (lata) X ± SD	26,7 ± 4,3	27,1 ± 5,6	NS
Masa ciężarnych (kg) X ± SD	58,4 ± 3,2	61,2 ± 4,5	NS
Pierwiastki Wieloródki (%)	67,0 33,0	76,0 24,0	NS
Poród przedwczesny n (%)	7 (20)	1 (3,1)	<0,02

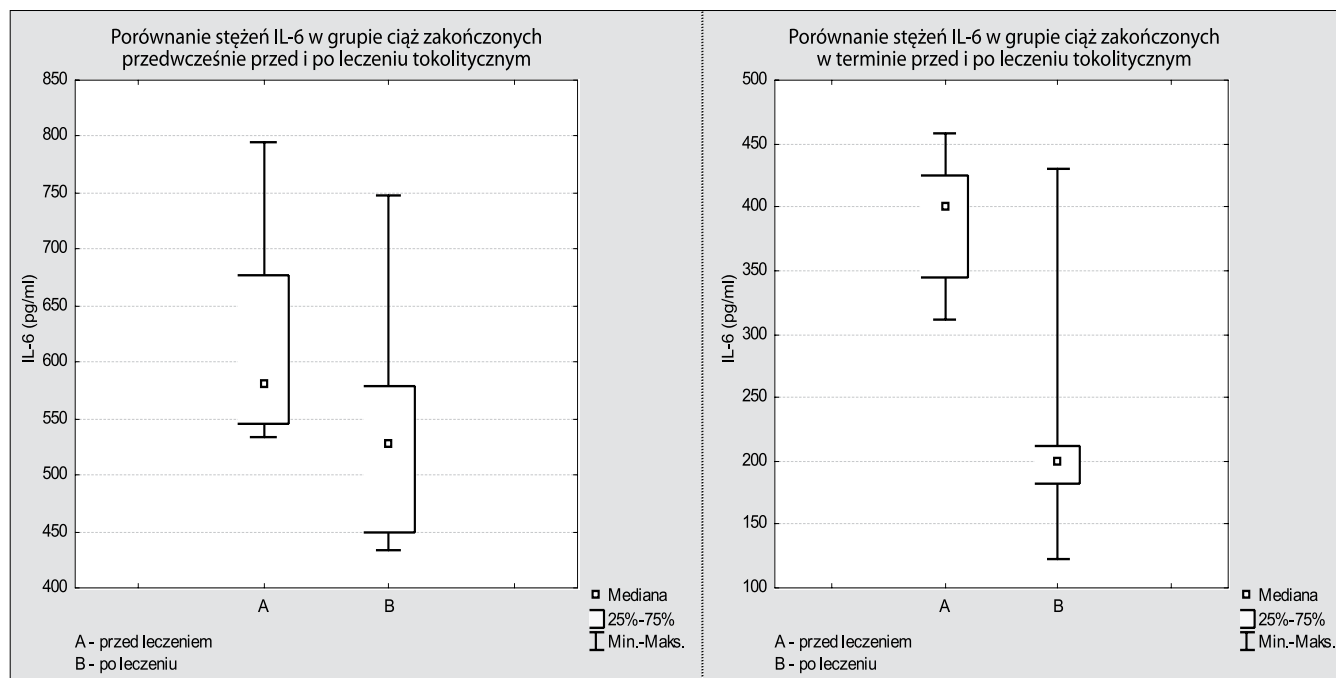
Tabela II. Porównanie wartości leukocytozy (WBC), białka C – reaktywnego (CRP) w surowicy krwi oraz IL-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej i pH pochwy w analizowanych grupach.

	Grupa badana n=35	Grupa kontrolna n=32	p
WBC (G/L)	12,8	7,3	NS
CRP (mg/L)	6,9	4,1	NS
pH pochwy	5,33	5,04	NS
IL-6 (pg/mL)	458	123	<0,05

Tabela III. Stężenie IL-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej przed rozpoczęciem i po 48 godzinach leczenia tokolitycznego.

IL-6	przed leczeniem (pg/mL)	po 48 godzinach (pg/mL)	p
Skuteczne leczenie (n=28)	389	211	<0,001
Nieprowadzenie leczenia (n=7)	621	532	<0,05

Szybka ocena stężenia IL-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej w zagrażającym porodzie przedwczesnym.



Rycina 1. Zmiany stężeń IL-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej przed i po leczeniu tokiolitycznym w grupie ciąż zakończonych przedwcześnie i w grupie ciąż zakończonych w terminie.

Wydzielinę szyjkowo-pochwową pobierano wymazówką z tylnego sklepienia pochwy, po założeniu jałowych wzierników pochwowych. Stężenie IL-6 oceniano bezpośrednio po pobraniu materiału metodą spektrofotometryczną za pomocą aparatu PICO SCAN przy użyciu ilościowego testu Milenia QuickLine Cytokine Quicktests. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu Statistica wersji 7.0PL.

Wyniki

Charakterystykę badanej populacji kobiet przedstawiono w tabeli I. W grupie badanej, w stosunku do zdrowych ciężarnych, stwierdzono znamienne wyższe wartości IL-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej (458pg/mL vs 123pg/mL; $p < 0,05$). Nie stwierdzono natomiast różnic w zakresie wartości pH wydzieliny pochwowej, leukocytozy oraz stężenia białka C-reaktywnego w surowicy krwi. (Tabela II).

Spośród 35 pacjentek z zagrażającym porodem przedwczesnym w następstwie skutecznego leczenia tokiolitycznego u 28 (80%) ciąża zakończyła się około terminu porodu. W tych przypadkach po dwóch dobach leczenia zaobserwowano wysoce istotne statystycznie obniżenie wartości IL-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej. W pozostałych 7 przypadkach zakończonych niepowodzeniem leczenia, stężenia IL-6 w oznaczeniu kontrolnym uległy mniej wyraźnemu, jednakże również znamienne. (Tabela III, rycina 1).

Dyskusja

Zarówno współczesne piśmiennictwo jak i wyniki badań własnych wskazują, że stężenia IL-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej ciężarnych z zagrażającym porodem przedwczesnym są w sposób znamienno podwyższone. Już w latach dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku zwrócono uwagę na możliwość wykorzystania oznaczeń IL-6 w wydzielinie szyjkowej w nieinwazyjnej

diagnostyce zakażenia wewnątrzrodniowego oraz w prognozowaniu porodu przedwczesnego u ciężarnych z zachowanymi błonami płodowymi [7]. Lockwood i wsp. oceniali stężenia IL-6 w wydzielinie szyjkowej i pochwowej u 161 ciężarnych pomiędzy 24 a 36 tygodniem ciąży i stwierdzili, że szyjkowe wartości tej cytokiny, przekraczające 250pg/mL, znacznie zwiększają ryzyko porodu przedwczesnego (czułość 50,0%, specyficzność 85,0%, PPW 47,2%, NPW 86,4%). Nieco mniej czułe (45,5%), ale równie specyficzne (86,6%) w predykcji przedwczesnego zakończenia ciąży okazały się oznaczenia IL-6 w wydzielinie pochwowej dla wartości progowej >125 pg/mL [9]. Goepfert i wsp. zbadali zależność pomiędzy stężeniem IL-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej w 22–24 tygodniu niepowikłanej ciąży a czasem jej zakończenia u prawie 3000 zdrowych ciężarnych, wykazując znamienne wyższe stężenia tej cytokiny w przypadkach, w których ciąża zakończyła się przedwcześnie [12]. Ponadto stwierdzili oni, że podwyższone wartości IL-6 w 22–24 tygodniu prognozują zakończenie ciąży w czasie do 4 tygodni od momentu dokonania oznaczeń. Znamienne wyższe wartości IL-6 w wydzielinie szyjkowej pobranej jednorazowo w 24 tygodniu ciąży u kobiet, które w późniejszym okresie urodziły przedwcześnie wykazali także Paternoster i wsp. [13]. Również Lange i wsp. w wydzielinie szyjkowej 31 ciężarnych z zagrażającym porodem przedwczesnym wykazali znamienne wyższe wartości IL-6 niż u zdrowych ciężarnych, a przy wartości progowej 20pg/mL czułość i negatywna wartość predykcyjna dla przedwczesnego zakończenia ciąży wynosiła 100% [14]. Zbliżone wyniki w swoich badaniach uzyskał Torbé [11]. Coleman i wsp. porównali wartość oceny stężeń IL-6, a ponadto IL-1 beta i IL-8, w wydzielinie szyjkowo-pochwowej z wartością oceny płodowej fibronektyny i rozwarcia kanału szyjki macicy w predykcji porodu przedwczesnego u 104 ciężarnych z objawami zagrażającego porodu przedwczesnego i zachowanymi błonami płodowymi pomiędzy 24 a 33 tygodniem ciąży [15].

Rzepka R, et al.

W ich badaniach wartość progowa IL-6 > 35 pg/mL charakteryzowała się 60% czułością i 77% specyficznością w przepowiadaniu porodu w ciągu 2 dni i 62% czułością i 80% specyficznością w przepowiadaniu porodu do 7 dni od wystąpienia objawów zagrożenia porodem przedwczesnym. Podobną wartość charakteryzowała się ocena rozwarcia szyjki macicy i stężeń fibronektyny. Natomiast wartość oznaczeń IL-1 beta i IL-8 była niższa. Autorzy ci uważają, że ocena stężeń cytokin w wydzielinie szyjkowo-pochwowej ma ograniczoną wartość w przepowiadaniu przedwczesnego zakończenia ciąży, porównywalną z oceną rozwarcia szyjki macicy > 1 cm i stężeń fibronektyny płodowej. Również Holst i wsp. wykazali wyższe wartości IL-6 i IL-8 w wydzielinie szyjkowej tych ciężarnych z objawami zagrażającego porodu przedwczesnego, u których ciąża zakończyła się przed 34 tygodniem lub przed upływem 7 dni od pobrania materiału do badań, i wskazują na umiarkowaną wartość predykcyjną tych oznaczeń [16].

Wobec udowodnionego związku pomiędzy wzrostem wartości IL-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej a przedwczesnym zakończeniem ciąży niezwykle istotne jest opracowywanie i wdrażanie do praktyki klinicznej testów umożliwiających szybkie oznaczenie wartości tej cytokiny w łatwo dostępnym kompartmentcie pochwowym. Już w roku 2001 Trebeden i wsp., wykorzystali do tego celu, oparty o technikę RT-PCR, test paskowy o czułości > 20 pg/mL [17]. Uważają oni, że stwierdzenie dodatnich wyników tej cytokiny w wydzielinie szyjkowo-pochwowej jest przydatne w predykcji porodu przedwczesnego < 34 tygodnia (czułość 30,8%, specyficzność 93,8%) oraz w predykcji zakończenia ciąży w czasie 7 dni od wykonania badania (czułość 40,9%, specyficzność 89,8%). Uważają również, że dodatni wynik testu upoważnia do podejrzewania infekcyjnej etiologii zagrażającego porodu przedwczesnego oraz do wczesnego wdrożenia antybiotykoterapii. Kayem i wsp. wykorzystali paskowy test immunochromatograficzny o progu wykrywalności > 100 pg/mL, umożliwiający wykrycie IL-6 w wydzielinie pochwowej w czasie 20 minut, u ciężarnych po przedwczesnym pęknięciu błon płodowych w ciąży niedonoszonej, przewidując na podstawie jego wyniku rozwój wrodzonej infekcji u noworodka [18].

W dotychczas opublikowanych badaniach wykorzystywano z powodzeniem szybki, spektrofotometryczno-ilościowy test Milenia m.in. do oceny wartości IL-6 w osoczu krwi noworodków z podejrzeniem uogólnionej infekcji oraz w osoczu krwi dorosłych w przebiegu sepsy i po ciężkich urazach głowy w celu przewidywania rozwoju zapalenia płuc [19, 20, 21, 22]. W naszym badaniu po raz pierwszy wykorzystano ten test do oceny wartości IL-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej.

Wyniki naszych badań wykazywały znamienne wyższe stężenie IL-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej u ciężarnych z zagrażającym porodem przedwczesnym w porównaniu do ciężarnych zdrowych. Ponadto, analiza wartości IL-6 po wdrożonym z powodu zagrażającego porodu przedwczesnego leczeniu, wykazała znamienne spadki stężeń tej cytokiny w stosunku do wartości wyjściowych, zarówno w przypadkach wyleczonych, jak i w tych, w których dokonał się poród.

Oznaczanie stężeń markerów w wydzielinie szyjkowej jest badaniem zupełnie nieinwazyjnym. Materiał biologiczny jest łatwy do pobrania, co stanowi niewątpliwą zaletę kliniczno-metodologiczną. Natomiast zastosowanie przyłóżkowego, szybkiego, ilościowego testu diagnostycznego pozwala na uzyskanie wyniku

stężenia biomarkera już po 5-10 minutach od pobrania materiału. Może to uczynić prezentowaną metodę użyteczną w codziennej praktyce medycznej, nie tylko do oceny zagrożenia porodem przedwczesnym, ale także w celu monitorowania efektywności leczenia.

Wnioski

Przyłóżkowy, ilościowy spektrofotometryczny test diagnostyczny pozwala na szybką, powtarzalną ocenę stężeń IL-6 w wydzielinie szyjkowo-pochwowej w celu określenia ryzyka wystąpienia porodu przedwczesnego oraz w celu monitorowania leczenia tokolitycznego.

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

Piśmiennictwo

1. Czajka R, Torbé A, Kurzawa R, [i wsp.]. Stężenie interleukiny-1 α i TNF- α w surowicy krwi kobiet z zagrażającym porodem przedwczesnym – doniesienie wstępne. *Klin Perinat Gin.* 1998, 26, 39-43.
2. Buonocore G, Filippo M, Gioia D, [et al.]. Maternal and Neonatal Plasma Cytokine Levels in Relation to Mode of Delivery. *Biol Neonate.* 1995, 68, 104-110.
3. Ghidini A, Jenkins C, Spong C, [et al.]. Elevated amniotic fluid interleukin-6 levels during the early second trimester are associated with greater risk of subsequent preterm delivery. *Am J Reprod Immunol.* 1997, 37, 227-231.
4. Torbé A, Czajka R. Zropalne cytokiny i prokalcitonina w wydzielinie szyjkowo-pochwowej u ciąży powiklanej niewydolnością cieżniowo-szyjkową. *Ginekol Pol.* 2004, 75, 391-395.
5. Witczak M, Torbé A, Czajka R. Ocena stężeń cytokin IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-6 i IL-8 w surowicy krwi i płynie owodniowym w porodzie przedwczesnym i o czasie powikłanym przedwczesnym pęknięciem błon płodowych (PPBP). *Ginekol Pol.* 2003, 74, 1343-1347.
6. Romero R, Durum S, Dinarello C, [et al.]. Interleukin-1 stimulates prostaglandin biosynthesis by human amnion. *Prostaglandins.* 1989, 37, 13-22.
7. Rizzo G, Capponi A, Rinadolo D, [et al.]. Interleukin-6 concentrations in cervical secretions identify microbial invasion of the amniotic cavity in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1996, 175, 812-817.
8. Lockwood C. The diagnosis of preterm labor and the prediction of preterm delivery. *Clin Obstet Gynecol.* 1995, 38, 675-687.
9. Lockwood C, Ghidini A, Wein R, [et al.]. Increased interleukin-6 concentrations in cervical secretions are associated with preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 1994, 171, 1097-1102.
10. Torbé A, Czajka R. Proinflammatory cytokines and other indications of inflammation in cervicovaginal secretions and preterm delivery: Association between cervical interleukin 6 and spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2001, 184, 483-488.
11. Paternoster D, Stella A, Gerace P, [et al.]. Biochemical markers for the prediction of spontaneous preterm birth. *Int J Gynaecol Obstet.* 2002, 79, 123-129.
12. Lange M, Chen F, Wessel J, [et al.]. Elevation of interleukin-6 levels in cervical secretions as a predictor of preterm delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2003, 82, 326-329.
13. Coleman M, Keelan A, McCowan M, [et al.]. Predicting preterm delivery: comparison of cervicovaginal interleukin IL-1beta, IL-6 and IL-8 with fetal fibronectin and cervical dilatation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001, 95, 154-158.
14. Holst R, Mattsby-Baltzer I, Wennerholm U, [et al.]. Interleukin-6 and interleukin-8 in cervical fluid in a population of Swedish women in preterm labor: relationship to microbial invasion of the amniotic fluid, intra-amniotic inflammation, and preterm delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2005, 84, 551-557.
15. Trébeden H, Goffinet F, Kayem G, [et al.]. Strip test for bedside detection of interleukin-6 in cervical secretions is predictive for impending preterm delivery. *Eur Cytokine Netw.* 2001, 12, 359-360.
16. Kayem G, Goffinet F, Batteux F, [et al.]. Detection of interleukin-6 in vaginal secretions of women with preterm premature rupture of membranes and its association with neonatal infection: A rapid immunochromatographic test. *Am J Obstet Gynecol.* 2005, 192, 140-145.
17. Görbe E, Jeager J, Nagy B, [et al.]. Assessment of serum interleukin-6 with a rapid test. The diagnosis of neonatal sepsis can be established or ruled out. *Orv Hetil.* 2007, 148, 1609-1614.
18. Fernandez Alvarez J, Jungmann H, Green S, [et al.]. Early recognition of changes in microcirculation in neonates with suspected early onset sepsis (EOS). *Arch Dis Child.* 2008, 93, Suppl II, A98.
19. Scheffold J, Hasper D, von Haehling S, [et al.]. Interleukin-6 serum level assessment using a new qualitative point-of-care test in sepsis: A comparison with ELISA measurements. *Clin Biochem.* 2008, 41, 893-898.
20. Schlosser H, Volk H, Spletstösser G, [et al.]. A new qualitative interleukin-6 bedside test can predict pneumonia in patients with severe head injury – comparison to the standard immulite test and a semiquantitative bedside test. *J Neurosurg Anesthesiol.* 2007, 19, 5-9.