

Ocena przydatności oznaczania elastazy neutrofilowej u ciężarnych z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych w przypadkach podejrzanych o subkliniczną infekcję wewnątrzowodniową

The assessment of neutrophil elastase measurements usefulness in pregnant women with premature rupture of fetal membranes and chorioamnionitis suspicion

Czajka Ryszard¹, Kwiatkowski Sebastian¹, Chlubek Dariusz²,
Barbara Dołęgowska², Andrzej Torbé¹, Rafał Rzepka¹

¹ Katedra Położnictwa, Ginekologii i Neonatologii, Klinika Położnictwa i Ginekologii PAM w Szczecinie

² Katedra Biochemii i Chemii Medycznej PAM w Szczecinie

Streszczenie

Cel pracy: Ocena stężenia i przydatności oznaczeń elastazy neutrofilowej (NE) u ciężarnych z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych (PPBP) w ciążyach niedonoszonych w przypadkach podejrzanych o zakażenie wewnątrzowodniowe.

Materiał i metody: 60 kobiet ciężarnych w 2 grupach – z i bez PPBP. Stężenie NE oznaczano w osoczu krwi matczynej oraz w płynie owodniowym i analizowano w zależności od obecności PPBP i czynników sugerujących występowanie infekcji wewnątrzowodniowej.

Wyniki: Stężenie elastazy było wyższe w grupie PPBP i jednocześnie wyższe w przypadkach podejrzanych o zakażenie wewnątrzowodniowe. Czulość i negatywna wartość predykcyjna oznaczania NE w płynie owodniowym wyniosła 100% przy obecności przynajmniej dwóch czynników sugerujących infekcję.

Wnioski: Oznaczanie NE cechuje się wysoką przydatnością w wykluczeniu podejrzenia o zakażenie wewnątrzowodniowe.

Słowa kluczowe: **elastaza neutrofilowa / przedwczesne pęknięcie błon płodowych /
/ infekcja wewnątrzowodniowa /**

Adres do korespondencji:

Ryszard Czajka
Katedra Położnictwa, Ginekologii i Neonatologii, Klinika Położnictwa i Ginekologii PAM
ul. Powstańców Wielkopolskich 72
70-111 Szczecin
tel/fax. +48 91 466-13-50
e-mail: czajkar@sci.pam.szczecin.pl

Otrzymano: 15.09.2008
Zaakceptowano do druku: 15.12.2008

Czajka R, et al.

Summary

Objectives: The evaluation of neutrophil elastase (NE) levels and its usefulness in pregnant women with premature rupture of foetal membranes (PROM) and chorioamnionitis suspicion.

Material and methods: We evaluated the relationship between maternal plasma and amniotic fluid NE levels with the presence of chorioamnion infection in sixty pregnant women, divided into two groups – with and without PROM. The diagnostic performance of NE evaluations in discrimination of suspected intraamniotic infection was calculated.

Results: NE levels in PROM patients are significantly higher than in the control group ($p < 0.000001$). Significantly higher NE concentrations are also observed in the case of chorioamnionitis. Moreover, if at least two clinical markers of infection were present, the diagnostic value of amniotic fluid NE levels proved to be 100% sensitive and of 100% negative predictive value.

Conclusions: NE levels may be used as clinical markers which enable the obstetricians to exclude chorioamnionitis.

Key words: **neutrophil elastase / preterm premature rupture of fetal membranes / chorioamnionitis /**

Wstęp

Infekcja wewnątrzrodniowa jest jedną z głównych przyczyn przedwczesnego pęknięcia błon płodowych (PPBP) [1, 2, 3, 4, 5]. W reakcji zapalnej rolę odgrywają liczne substancje (cytokiny, prostaglandyny) i linie komórkowe (neutrofile, makrofagi). Pierwszą linią obrony i odpowiedzi zapalnej są neutrofile. Występujące w cytozolu komórkowym neutrofile ziarnistości w wyniku degranulacji uwalniają enzymy proteolityczne a jednym z nich jest elastaza neutrofilowa (NE).

Dane z piśmiennictwa wskazują, że ocena NE w przypadkach potwierdzonej histopatologicznie infekcji wewnątrzmacicznej wykazuje podwyższone wartości stężeń i cechuje się wysoką przydatnością [6, 7, 8, 9, 10, 11].

Bańkowska i wsp. wykazali, że ocena stężenia NE w osoczu krwi matczynej ma wysoką wartość predykcyjną i jej stężenie koreluje z potwierdzoną histopatologicznie infekcją wewnątrzmaciczną [6]. Z przeprowadzonej, przez Kidokoro i wsp. analizy wartości predykcyjnej stężenia NE oznaczanej w płynie owodniowym jako markera infekcji wewnątrzmacicznej wynika, iż metoda ta ma dużą wartość diagnostyczną [7]. Matsuda i wsp. jako pierwsi, ale również Rivero-Marcotegui i wsp. donosili, iż może istnieć związek pomiędzy rozwijającą się infekcją wewnątrzmaciczną, a stężeniem NE w płynie owodniowym [8, 9]. Helmig i wsp. prowadzili badania porodów przedwczesnych powikłanych i niepowikłanych PPBP oraz infekcją wewnątrzmaciczną. Stwierdzili, iż stężenie NE w płynie owodniowym znacząco wzrasta w przypadkach infekcji wewnątrzmacicznej [12]. Daoud i wsp., wykonując amniocentezę w pierwszym i drugim trymestrze ciąży u pacjentek z ciężkim zakażeniem owodniowym, udowodnili, że stężenie elastazy jest statystycznie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną [13]. Podobne wyniki uzyskali Suzuki i wsp. wykonując amniocentezę w drugim trymestrze ciąży w przypadkach ciąży zakończonych poronieniem [14].

Kliniczne objawy infekcji wewnątrzmacicznej występują jednakże w końcowym okresie tego schorzenia a nadal nie istnieje złoty standard diagnostyczny, dlatego opierając się na

parametrach sugerujących występowanie infekcji podjęto próbę oceny wartości i przydatności oznaczania NE w przypadkach podejrzanych o subkliniczną infekcję wewnątrzrodniową.

Cel pracy

Ocena przydatności oznaczania stężeń NE w osoczu krwi matczynej i w płynie owodniowym w rozpoznawaniu subklinicznych zakażeń u kobiet ciężarnych.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono u 60 kobiet ciężarnych objętych opieką medyczną w Poradni Przyklinicznej i hospitalizowanych w Klinice Położnictwa i Ginekologii Katedry Położnictwa, Ginekologii i Neonatologii Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie w latach 2004-2007. Badane ciężarne podzielono na dwie grupy kliniczne po 30 kobiet każda: PPBP i K. (Tabela I).

Charakterystykę grup zawarto w tabeli II.

Grupę PPBP podzielono na podgrupy PPBP-0, PPBP-1 i PPBP-2 w zależności od obecności lub braku czynników sugerujących infekcję. PPBP-0 – brak czynników sugerujących infekcję, PPBP-1- obecność przynajmniej 1 czynnika, PPBP-2 – obecność przynajmniej 2 czynników. U żadnej z pacjentek, od momentu pęknięcia błon do pobrania materiału, nie doszło do wystąpienia czynności skurczowej macicy. U żadnej z kobiet włączonych do badań nie stwierdzono klinicznych objawów infekcji.

Krew żylna ciężarnych była materiałem badawczym w obydwu grupach. Krew żylną kobiet ciężarnych pobierano z żyły łokciowej w ilości 5mL, z czego 2mL przeznaczano na oznaczenie stężenia białka C-reaktywnego (CRP), liczby leukocytów krwi obwodowej (WBC) i odsetka neutrofilii.

Pozostałe 3mL wirowano w próbkach zawierających antykoagulant (wersenian potasowy EDTA-K₂) przez 10 minut z prędkością 5000 obrotów/minutę. Po zakończeniu wirowania uzyskane osocze przenoszono do probówek zawierających antyoksydant (0,05% BHT butyrylohydroksytoluen;

Tabela I. Materiał kliniczny.

Symbol grupy	Liczba kobiet (N)	Pełna nazwa grupy
PPBP	30	Kobiety ciężarne z przedwczesnym pęknięciem błon płodowych pomiędzy 24 a 36 tygodniem ciąży
K	30	Kobiety ciężarne pomiędzy 24 a 36 tygodniem ciąży fizjologicznej

Tabela II. Charakterystyka grup.

Analizowane parametry	PPBP	K
Liczba kobiet ciężarnych	N-30	N-30
Wiek X (SD) (lata)	29,7 (6,31)	27,3 (6,22)
Liczba pierworódek n (%)	12 (40)	19 (63)
Liczb wieloródek n (%)	18 (60)	11 (37)
Tydzień pobrania materiału X(SD)	31,6 (2,96)	29,2 (3,23)
Temperatura ciała °C (zakres)	36,9 (36,5-37,5)	36,8(36,0-37,4)
Tętno uderzeń /min. (zakres)	81 (66-98)	77 (66-84)

Sigma) i umieszczano w temperaturze -80 stopni Celsjusza aż do chwili oznaczeń. Jednocześnie z krwią żyłą ciężarnych w grupie PPBP pobierano płyn owodniowy w ilości 8-10mL, w trakcie badania ginekologicznego, we wziernikach pochwo- wych, ze swobodnie wypływającego strumienia. 4mL płynu wysyłano do badania mikrobiologicznego, a pozostałą część wirowano w probówkach zawierających antykoagulant (wer- senian potasowy EDTA-K₂) przez 10 minut z prędkością 5000 obrotów/minutę, a następnie przenoszono do probówek zawierających antyoksydant (0,05% BHT butyrylohydroksytoluen; Sigma) i umieszczano w temperaturze -80 stopni Celsjusza aż do chwili oznaczeń.

Stężenie ludzkiej NE, związanej z α_1 -antytrypsyną, w oso- czu krwi obwodowej i płynie owodniowym oznaczano metodą ELISA z wykorzystaniem zestawu odczynnikowego Human PMN Elastaze ELISA (BioVendor; Brno; Republika Czeska).

Poszukując subklinicznych wykładników infekcji, w mo- mencie pobierania materiału do badań osocza krwi matczynej i płynu owodniowego oznaczano również stężenie białka CRP w krwi matczynej, liczbę leukocytów krwi obwodowej, odsetek neutrofilii. Stężenie CRP było oznaczane ilościową metodą immunoturbidometryczną przy użyciu aparatu Olympus AU 560 System.

Za normę przyjęto wartość poniżej 10mg/L. W tym sa- mym czasie oznaczana była całkowita liczba leukocytów krwi obwodowej i odsetek neutrofilii w krwi ciężarnych.

Pomiary dokonywane były automatycznie przy użyciu aparatów firmy Abbott: Celldyn 1700 i Celldyn 3500.

Za wartość prawidłową WBC przyjęto wyniki poniżej 15G/L. Badania mikrobiologiczne obejmowały posiewy płynu owodniowego pobieranego w trakcie badania ginekologicznego.

Uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej. Przeprowadzono ocenę normalności rozkładów zmiennych ciągłych (test Shapiro-Wilka), która wykazała odbiegające od normalnego (lognormalne) rozkłady parametrów.

Każdy badany parametr scharakteryzowano za pomocą: liczebności próby (N), mediany (Mediana). Przy ocenie różnic badanych parametrów pomiędzy grupami użyto testu U- Manna Whitneya. Wyniki testów przyjęto za istotne staty- stycznie przy $p < 0,05$.

Oceny przydatności dokonano z wyznaczeniem takich pa- rametrów jak czułość, swoistość, pozytywna wartość predyk- cyjna (PWP) i negatywna wartość predykcyjna (NWP).

Wyniki

Stężenia NE w osoczu krwi matczynej były istotnie wyższe w grupie PPBP niż w grupie kontrolnej K. Stężenia NE były również wyższe w osoczu krwi matczynej we wszystkich trzech podgrupach z odpływaniem płynu owodniowego, zarówno z obecnością jak i bez obecności czynników sugerujących in- fekcję, niż u ciężarnych zdrowych.

Nie stwierdzono natomiast różnic w stężeniu NE w osoczu krwi matczynej pomiędzy tymi podgrupami. (Tabela III).

Stężenia NE w płynie owodniowym w grupie z PPBP były istotnie wyższe, jeśli obecny był przynajmniej jeden czynnik sugerujący infekcję. (Tabela IV).

Tabela III. Porównanie wartości stężeń elastazy neutrofilowej w osoczu krwi matczynej pomiędzy grupami.

Grupa	N	Mediana (ng/mL)	Grupa	N	Mediana (ng/mL)	p
PPBP	30	86,75	K	30	40,31	<0,000001
PPBP-0	17	86,63	K	30	40,31	<0,000001
PPBP-1	13	88,16	K	30	40,31	<0,0001
PPBP-2	9	88,16	K	30	40,31	<0,001
PPBP-0	17	86,63	PPBP-1	13	88,16	NS
PPBP-0	17	86,63	PPBP-2	9	88,16	NS

Tabela IV. Porównanie wartości stężeń elastazy neutrofilowej w płynie owodniowym pomiędzy podgrupami.

Grupa	N	Mediana (ng/mL)	Grupa	N	Mediana (ng/mL)	p
PPBP-0	17	154,67	PPBP-1	13	260,76	<0,05
PPBP-0	17	154,67	PPBP-2	9	314,00	<0,005

Tabela V. Porównanie stężeń elastazy neutrofilowej w osoczu krwi matczynej w grupie PPBP w zależności od wartości parametrów sugerujących infekcję.

Elastaza neutrofilowa (ng/mL)				
N	Mediana	N	Mediana	P
CRP <10mg/L		CRP ≥10mg/L		
18	86,52	12	92,84	NS
WBC <15G/L		WBC ≥15G/L		
24	86,52	6	106,97	NS
Posiew płynu ujemny		Posiew płynu dodatni		
22	86,52	8	92,84	NS
% neutrofilii <80		% neutrofilii ≥80		
25	86,63	5	97,52	NS

Tabela VI. Porównanie stężeń elastazy neutrofilowej w płynie owodniowym w grupie PPBP w zależności od wartości parametrów sugerujących infekcję.

Elastaza neutrofilowa (ng/mL)				
N	Mediana	N	Mediana	P
CRP <10mg/L		CRP ≥10mg/L		
18	130,54	12	287,38	<0,05
WBC <15G/L		WBC ≥15G/L		
24	159,55	6	287,38	<0,05
Posiew ujemny		Posiew dodatni		
22	159,55	8	287,38	<0,05
% neutr <80%		% neutr ≥80%		
25	164,43	5	260,77	NS

Tabela VII. Parametry przydatności rokowniczej oznaczania stężenia elastazy neutrofilowej w osoczu krwi matczynej i w płynie owodniowym w wykrywaniu subklinicznego zakażenia wewnątrzowodniowego mierzonego występowaniem przynajmniej 1 lub 2 i więcej markerów sugerujących występowanie infekcji.

Parametr	Osocze krwi matczynej		Płyn owodniowy	
	1 i więcej	2 i więcej	1 i więcej	2 i więcej
Czułość (%)	53,8	55,6	69,2	100,0
Swoistość (%)	58,8	57,1	47,1	52,4
PWP (%)	50,0	35,7	50,0	47,4
NWP (%)	62,5	75,0	66,7	100,0

Nie stwierdzono różnic pomiędzy stężeniami NE w osoczu krwi matczynej w zależności od wartości analizowanych czynników sugerujących obecność infekcji, natomiast stężenia NE w płynie owodniowym były istotnie wyższe w podgrupach z podwyższonymi wartościami CRP, WBC i przy dodatnim wyniku badania mikrobiologicznego płynu owodniowego. (Tabela V i VI).

Dla oznaczeń NE wyznaczono czułość, swoistość, pozytywną wartość predykcyjną (PWP) oraz negatywną wartość predykcyjną (NWP). Analizą objęto kobiety ciężarne z PPBP w ciążyach niedonoszonych, u których stwierdzono podwyższone wartości przynajmniej 1 lub 2 i więcej markerów sugerujących występowanie infekcji. Wyznaczanie czułości, swoistości, PWP, NWP wymaga wyznaczenia wartości progowej. Dla stężenia NE w osoczu krwi matczynej przyjęto wartość 88ng/mL, zaproponowaną przez Bańkowską i wsp [6]. Za wartość progową NE w płynie owodniowym przyjęto 150ng/mL, zaproponowaną przez Kidokoro [7]. Uzyskane wartości parametrów przedstawiono w tabeli VII.

Oznaczanie stężenia NE w płynie owodniowym przy obecności przynajmniej dwóch czynników sugerujących infekcję cechowało się 100% czułością i 100% negatywną wartością predykcyjną.

Dyskusja

Przedmiotem badania było porównanie stężeń elastazy w osoczu krwi matczynej i w płynie owodniowym u kobiet ciężarnych z PPBP z wynikami uznanych laboratoryjnych wykładników sugerujących obecność subklinicznej infekcji, takich jak WBC, odsetek neutrofilii, wartość CRP i dodatni wynik badania mikrobiologicznego płynu owodniowego.

W grupie ciężarnych z PPBP w ciążyach niedonoszonych nie stwierdzono różnic pomiędzy stężeniem NE w osoczu krwi matczynej w zależności od obecności podwyższonych parametrów sugerujących subkliniczną infekcję wewnątrzowodniową. Badania przeprowadzone przez Adeyemi wykazały obecność istotnej zależności u kobiet rodzących pomiędzy liczbą krwinek białych we krwi matczynej a stężeniem NE w osoczu krwi matczynej [15]. Przedstawione wyniki różniły się od wyników badań własnych.

Przeprowadzono również analizę mającą wykazać, czy stężenie NE w płynie owodniowym zmienia się przy podwyższonych wartościach uznanych laboratoryjnych wykładników sugerujących subkliniczną infekcję.

W grupie z PPBP w ciążyach niedonoszonych stwierdzano znamiennie wyższe stężenia NE, jeśli wartość CRP przekraczała 10mg/L, wartość WBC była wyższa od 15G/L lub stwierdzono dodatni wynik badania mikrobiologicznego płynu owodniowego. Również jeśli wartość przynajmniej jednego z parametrów sugerujących obecność subklinicznej infekcji wewnątrzmacicznej, niezależnie od jego rodzaju, była powyżej zakresu przyjętego za normę, stężenie NE w płynie owodniowym było istotnie podwyższone.

Rivero-Marcotegui badał stężenie NE w płynie owodniowym kobiet z porodem przedwczesnym i zakażeniem wewnątrzowodniowym. Stwierdził on wyższe stężenia tego enzymu w płynie owodniowym w przypadkach dodatniego wyniku mikrobiologicznego płynu owodniowego [9].

Badania własne wykazały wyższe stężenia NE przy dodatnim wyniku badania mikrobiologicznego płynu owodniowego, jednakże różnice nie były istotne statystycznie.

Suzuki oceniał stężenie NE i prozapalnych cytokin w płynie owodniowym w ciążyach pomiędzy 16-22 tygodniem ciąży. Część z badanych kobiet prezentowała kliniczne objawy infekcji wewnątrzowodniowej. Stwierdził on występowanie istotnej zależności pomiędzy stężeniem NE w płynie owodniowym a stężeniami interleukin [14]. Uzyskane wyniki nie wykazały istnienia zależności pomiędzy stężeniem elastazy w osoczu krwi matczynej a laboratoryjnymi wykładnikami sugerującymi infekcję. Natomiast w badaniach płynu owodniowego stwierdzono wyższe stężenia NE, jeśli wartość białka C-reaktywnego i liczba krwinek białych były podwyższone. Ponadto stężenia NE w płynie owodniowym były wyższe, jeśli stwierdzono dodatni wynik badania mikrobiologicznego płynu owodniowego. Może to sugerować, że stężenia elastazy w płynie owodniowym wzrastają w przypadkach podejrzanych o subkliniczną infekcję wewnątrzowodniową.

Kolejnym celem badań była ocena przydatności oznaczania stężeń NE w osoczu krwi matczynej i płynie owodniowym w diagnozowaniu subklinicznych zakażeń wewnątrzowodniowych. Oznaczenia elastazy w osoczu krwi matczynej charakteryzowały się dość wysoką czułością i swoistością oraz negatywną i pozytywną wartością predykcyjną, jeśli przynajmniej jeden lub dwa markery sugerujące występowanie infekcji były podwyższone. Ocena parametrów oznaczania przydatności NE w płynie owodniowym jako markera subklinicznej infekcji wewnątrzowodniowej mierzonej obecnością podwyższonych dwóch lub więcej markerów sugerujących infekcję

Czajka R, et al.

wykazały 100% czułość metody i 100% negatywną wartość predykcyjną.

Dotychczasowe badania nad NE dotyczyły potwierdzonych przypadków infekcji wewnątrzmacicznej. Teichman ocenił stężenie elastazy w osoczu krwi kobiet ciężarnych, u których stwierdzono zarówno histologiczne jak i kliniczne objawy infekcji wewnątrzrodniowej. Wykazał on znacząco wyższe stężenia NE u wszystkich kobiet, u których stwierdzono zarówno kliniczne jak i histopatologiczne cechy infekcji wewnątrzmacicznej. Pozostałe markery, takie jak CRP i liczba krwinek białych nie charakteryzowały się ani taką czułością, ani swoistością [10]. W badaniach Bańkowskiej oceniano wartość predykcyjną NE w osoczu krwi matczynej jako markera potwierdzonej histopatologicznie infekcji wewnątrzrodniowej. Wykazano, iż oznaczanie elastazy w osoczu krwi matczynej jest wysoce efektywnym testem diagnostycznym w wykrywaniu histopatologicznie potwierdzonego zakażenia wewnątrzrodniowego. Negatywna wartość predykcyjna w jej badaniach wyniosła 100%. Pozostałe markery zakażenia takie jak CRP i WBC nie wykazały tak wysokich wartości predykcyjnych [6]. Miyazaki stwierdził, że wyższe stężenia NE w płynie owodniowym w przypadkach subklinicznej infekcji wewnątrzrodniowej związane są z krótszym czasem do wystąpienia porodu [16]. Daud ocenił wartości NE w płynie owodniowym w ciążach powikłanych zakażeniem wewnątrzrodniowym w drugim trymestrze ciąży wykazując jej wyższe stężenia w grupie z zakażeniem [13]. Kidokoro ocenił czułość, swoistość oraz wartość predykcyjną NE w płynie owodniowym jako markera infekcji wewnątrzmacicznej potwierdzonej dodatnim wynikiem badania histopatologicznego. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdził, że podwyższone wartości NE charakteryzują się najwyższą czułością, swoistością i wartościami predykcyjnymi w wykrywaniu zakażenia wewnątrzrodniowego. Pozostałe parametry, takie jak WBC czy CRP, nie cechowały się tak wysoką przydatnością [7]. Helmig i Romero badali stężenie elastazy w płynie owodniowym. W przypadkach infekcji wewnątrzrodniowej jej stężenia były wyższe niż w grupach bez zakażenia [12]. Matsuda ocenił stężenie NE w wydzielinie szyjkowej i w płynie owodniowym celem przewidywania infekcji wewnątrzrodniowej. Dodatkowo oceniana była wartość białka CRP a po porodzie przeprowadzono badanie histopatologiczne popłodu.

Najwyższą wartość diagnostyczną posiadało badanie histopatologiczne i ocena stężenia NE w płynie owodniowym [8]. Samperiz ocenił stężenie NE w krwi pępowinowej. Noworodki zostały podzielone na trzy grupy bez oznak infekcji (A), z podejrzeniem infekcji (B) i z pełnymi objawami infekcji wrodzonej (C). Stężenia elastazy w grupie C były istotnie wyższe niż w grupie A i B. Nie stwierdzono różnic pomiędzy grupami A i B [17]. Laskowska oceniała stężenie NE w krwi pępowinowej przy obecności i braku cech infekcji wewnątrzmacicznej, stwierdzając wyższe stężenia u noworodków z cechami infekcji i to zarówno u noworodków donoszonych jak i wcześniaków [18].

Jak wynika z dotychczasowych doniesień stężenie NE również w przypadkach rozwoju infekcji wewnątrzrodniowej. Również badania własne wskazują, że stężenia NE są wyższe w przypadkach ciąży podejrzanych o subkliniczną infekcję wewnątrzrodniową, a płyn owodniowy jest niezwykle cennym

materiałem w jej diagnozowaniu.

Stwierdzenie 100% NWP oznaczania NE w płynie owodniowym jako markera subklinicznej infekcji wewnątrzrodniowej pozwala sądzić, że niskie stężenia tego enzymu wykluczają jej występowanie.

Na podstawie badań własnych można wnioskować, że ocena stężenia NE w płynie owodniowym jest wysoce przydatna w sytuacjach podejrzanych o subkliniczne zakażenie wewnątrzrodniowe.

Wnioski

1. Elastaza neutrofilowa cechuje się wysoką przydatnością w wykluczeniu podejrzenia o zakażenie wewnątrzrodniowe.

Praca finansowana ze środków KBN, projekt badawczy nr 2 P05E 108 29

Piśmiennictwo

1. Hillier S, Krohn M, Kiviat N, [et al.]. Microbiologic causes and neonatal outcomes associated with chorioamnion infection. *Am J Obstet Gynecol.* 1991, 165, 955-961.
2. Hillier S, Martius J, Krohn M, [et al.]. A case control study of chorioamnion infection and histologic chorioamnionitis in prematurity. *N Engl J Med.* 1988, 319, 972-978.
3. Oszukowski P, Nowak M, Szpakowski M. Zakażenia wewnątrzmaciczne. *Medipress Gin Pol.* 1995, 5, 7.
4. Steinborn A, Gunes H, Halberstadt E. Signal for term parturition is of trophoblast and therefore of fetal origin. *Prostaglandins.* 1995, 50, 237-252.
5. Steinborn A, Kuhnert M, Halberstadt E. Immunomodulating cytokines induce term and preterm parturition. *J Perinat Med.* 1996, 24, 381-390.
6. Bańkowska E, Leibschang J, Pawłowska A. Ocena przydatności oznaczania elastazy granulocytarnej, białka C-reaktywnego i całkowitej liczby krwinek białych w rozpoznawaniu zakażenia wewnątrzmacicznego u ciężarnych po przedwczesnym pęknięciu błon płodowych (PROM). *Ginekol Pol.* 2003, 74, 1037-1043.
7. Kidokoro K, Furuhashi M, Kuno N, [et al.]. Amniotic fluid neutrophil elastase and lactate dehydrogenase: association with histologic chorioamnionitis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2006, 85, 669-674.
8. Matsuda Y, Maruyama H, Kuraya K. Relationship between granulocyte elastase levels and perinatal infections. *Gynecol Obstet Invest.* 1995, 39, 162-166.
9. Rivero-Marcotegui A, Larra_aga-Azcárate C, Ceres-Ruiz C, [et al.]. Polymorphonuclear Elastase and Interleukin-6 in Amniotic Fluid in Preterm Labor. *Clin Chem.* 1997, 43, 857-859.
10. Teichmann A, Arendt P, Speer C. Premature rupture of the membranes and amniotic infections—the significance of laboratory tests. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1990, 34, 217-222.
11. Yamada T, Matsubara S, Minakami H, [et al.]. Relation between viability of vaginal polymorphonuclear leukocytes and presence of histologic chorioamnionitis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2000, 79, 818-823.
12. Helmig B, Romero R, Espinoza J, [et al.]. Neutrophil elastase and secretory leukocyte protease inhibitor in prelabor rupture of membranes, parturition and intra-amniotic infection. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2002, 12, 237-246.
13. Suzuki Y, Yamamoto T, [et al.]. Reduced nitric oxide in amniotic fluid of patients with chorioamnionitis. *Fetal Diagn Ther.* 2006, 21, 77-80.
14. Suzuki Y, Yamamoto T, Kojima K, [et al.]. Evaluation levels of cytokines in amniotic fluid of women with intrauterine infection in the early second trimester. *Fetal Diagn Ther.* 2006, 21, 45-50.
15. Adeyemi E, Abdulle A. Comparison of maternal and cord blood polymorphonuclear leukocyte elastase levels. *J Perinat Med.* 1998, 26, 89-93.
16. Miyazaki K, Furuhashi M, Matsuo K, [et al.]. Impact of subclinical chorioamnionitis on maternal and neonatal outcomes. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2007, 86, 191-197.
17. Sampéris S, Millet V, Lacroze V, [et al.]. Diagnostic value of granulocyte elastase determination in cord blood of newborn infants at risk for maternofetal infection. *Arch Pediatr.* 1997, 4, 406-410.
18. Laskowska-Klita T, Czerwińska B, Maj-Pucek M. Elastaza neutrofilowa krwi pępowinowej w diagnostyce zakażeń noworodków urodzonych o czasie i urodzonych przedwcześnie. *Med Wieku Rozw.* 2002, 6, 13-21.

Zmiany mRNA wariantów alternatywnego składowania C-endopeptydazy prokolagenu w mięśniakach macicy w zależności od fazy cyklu miesięcznego i u kobiet w okresie klimakterium

Changes of mRNAs encoding alternatively spliced variants of procollagen C-endopeptidase in leiomyomas uteri depending on the phase of menstrual cycle and in postmenopausal women

Auguściak-Duma Aleksandra^{1,4}, Kajor Maciej², Piwowarczyk Magdalena³, Sikora Jerzy³, Sieron Aleksander L.^{1,4}

¹ Katedra i Zakład Biologii Ogólnej Molekularnej i Genetyki, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach;

² Katedra Morfologii, Zakład Histopatologii, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach;

³ Klinika Ginekologii i Położnictwa, Centralny Szpital Kliniczny, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach.

⁴ Centrum Doskonałości Badania i Nauczania Biologii Molekularnej Macierzy i Nanotechnologii, Sieć CD BioMedTech „Silesia”

Streszczenie

Wstęp: Mięśniak gładkokomórkowy macicy (*Leiomyoma uteri*) jest niezłośliwym nowotworem monoklonalnym błony mięśniowej macicy. Rozwój guza charakteryzuje nadmierny i nieprawidłowy rozrost macierzy pozakomórkowej. Głównie składniki macierzy pozakomórkowej to kolageny typu I i III. Odcięcie C-propeptydów w prokolagenach typu I, II i III przez C-endopeptydazę prokolagenu wzbudza samoistne składowanie włókien kolagenowych. Endopeptydaza jest kluczowym regulatorem wytwarzania macierzy pozakomórkowej, kontroli jej jakości oraz procesów rozwojowych, takich jak rozwój kości czy naczyń krwionośnych.

Cel pracy: Celem pracy jest analiza syntezy trzech wariantów mRNA powstających w wyniku alternatywnego składowania transkryptów genu *BMP1*, kodującego C-endopeptydazę prokolagenu, w mięśniakach macicy, w porównaniu do prawidłowej błony mięśniowej macicy u kobiet w I i II fazie cyklu miesięcznego oraz w klimakterium.

Materiał i Metody: W badaniach analizowano materiał pochodzący z leiomyoma uteri i tkanek kontrolnych uzyskanych od 52 pacjentek. Proces alternatywnego składowania wariantów mRNA genu *BMP1* był oznaczany metodą densytometryczną produktów otrzymanych z reakcji RT-PCR. Znamienność statystyczną wykrytych różnic sprawdzano testami ANOVA i Najmniejszych Istotnych Różnic (LSD) w programie *mSTATC* oraz testem *t-Studenta* dla $p \leq 0,05$.

Adres do korespondencji:

Aleksander L. Sieron
Katedra i Zakład Biologii Ogólnej Molekularnej i Genetyki,
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach,
ul. Medyków 18, Bud. C-1, 40-752 Katowice,
Tel.: +48-32-2088394, Faks: +48-32-2088382,
e-mail: alsieron@sum.edu.pl

Otrzymano: 15.09.2008
Zaakceptowano do druku: 15.12.2008