

УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ“ – СКОПЈЕ

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ – СКОПЈЕ

УНИВЕРЗИТЕТСКА КЛИНИКА ЗА ГИНЕКОЛОГИЈА И АКУШЕРСТВО



**ПРЕДВИДУВАЊЕ НА ПРЕДВРЕМЕНО ПОРОДУВАЊЕ КАЈ
АСИМПТОМАТСКИ ПАЦИЕНТКИ ВРЗ ОСНОВА НА
ИНФЛАМАТОРНИ МЕДИЈАТОРИ ВО АМНИОНСКА ТЕЧНОСТ**

докторски труд

д-р Катерина Николоска

Ментор: проф. д-р Елена Трајковска Докиќ

Скопје, 2020

UNIVERSITY "SS CYRIL AND METHODIUS" – SKOPJE

MEDICAL FACULTY – SKOPJE

UNIVERSITY CLINIC FOR GYNECOLOGY AND OBSTETRICS



**PREDICTION OF PRETERM BIRTH IN
ASYMPTOMATIC PATIENTS WITH
INFLAMMATORY CYTOKINES IN AMNIOTIC FLUID**

Doctorate thesis

Katerina Nikoloska , MD

Mentor: Prof. Elena Trajkovska Dokic, MD, PhD

Skopje, 2020

Ментор:

проф. д-р Елена Трајковска Докиќ

Медицински факултет – Скопје

Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје, Р.Северна Македонија

Членови на комисија:

проф. д-р Гордана Адамова

Медицински факултет – Скопје

Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје, Р.Северна Македонија

проф. д-р Славјанка Поповска

Медицински факултет – Скопје

Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје, Р.Северна Македонија

проф. д-р Бети Зафирова Ивановска

Медицински факултет – Скопје

Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје, Р.Северна Македонија

проф. д-р Глигор Димитров

Медицински факултет – Штип

Универзитет „Гоце Делчев“ во Штип, Р.Северна Македонија

Датум на одбрана:

АПСТРАКТ

Предвидување на предвремено породување кај асимптоматски пациентки врз основа на инфламаторни медијатори во амнионската течност

Резиме: Предвременото породување дефинирано како породување пред 37 гестациска недела е сериозен акушерски проблем кој ги зафаќа 11 % од бременостите ширум светот. Тоа е поврзано со значаен неонатален морбидитет и морталитет. Достапните тестови за процена на ризикот за предвремено породување се неверојатно важни со оглед на огромните лични, економски и здравствени последици од предвременото породување. Идентификацијата на специфичен имунолошки медијатор и нивната концентрација во амнионската течност во второто тримесечје кај асимптоматски пациентки има привлечено мошне големо внимание како потенцијален извор за дијагностика и терапија на оваа проблематика. Цитокините (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α) се од исклучително значење во бременоста и тие се продуцираат од страна на постелката во амнионската течност и се зголемени доколку постои интраутерина инфламација.

Цел на студијата: е да се докаже способноста на инфламаторните медијатори IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α во амнионската течност во почетокот на раното второ тромесечие (16 г.н. -22 г.н.) за предвидување на предвремено породување (< 37 г.н.).

Материјал и методи: Во оваа проспективна, опсервациска лонгитудинална студија беа вклучени 150 пациентки со единечна бременост кај кои секако имаше потреба од медицински индицирана генетска амниоцентеза во раното второ тримесечје (16 г.н. – 22 г.н.). Оваа студија се изведуваше на Клиниката за гинекологија и акушерство, Институтот за имунологија и хумана генетика и на Институтот за микробиологија со паразитологија, Скопје, Р.Северна Македонија. При влез во студијата и потпишување согласност за учество во неа се вршеше ултразвучен преглед. При амниоцентезата се земаа дополнителни 5 мл амнионска течност во која пак потоа се одредуваа концентрациите на IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , бројот на леукоцити, концентрацијата на глукоза, боене по Gram и амниокултура. Кај сите пациентки трансвагинално беше мерена должината на грлото на матката и беа земени микробиолошки примероци за цервикални и вагинални брисеви. Сите пациентки се следеа до датумот на нивното породување каде точно беше нотирана гестациската недела на породување.

Резултати: Сите 150 пациентки беа во периодот од 16 г.н. до 22 г.н. Кај 20 од вкупно 150 пациентки настапи предвремено породување, додека пак, 128 пациентки се породиле во термин. Две пациентки ја прекинаа бременоста поради позитивен тест на генетската амниоцентеза. Наод на леукоцити во амнионска течност имаа 57.9% (11) пациентки породени пред 37-ма гестациска недела, кај 31.25% (128) пациентки породени по 37-ма гестациска недела. Во амнионската течност беа измерени сигнификантно различни вредности на глукоза, а во зависност од гестациската недела на породување ($p=0.038$). Кај пациентките породени предвреме овие вредности беа значајно пониски. Вредностите на TNF- α , покажаа сензитивност од 65% и специфичност од 70.5%. Концентрациите на IL-6 во амнионската течност сигнификантно се

разликуваа кај предвреме и термински породените пациентки ($p < 0.0001$). Зголемени концентрации на IL-6 во амнионската течност го зголемуваат ризикот за предвремено породување за околу 3-пати. Анализата за предикција на предвремено породување со помош на IL-6 маркерот, покажаа дека површината под ROC кривата има вредност од 0.789 (95% CI 0.672 – 0.906), со сензитивност од 75% (15/20), специфичност 82.8% (106/128), позитивна предиктивна вредност 40.5% (15/37) и негативна предиктивна вредност од 95% (106/111). IL-8 во амнионската течност кој покажа повисоки вредности го зголемува ризикот за предвремено породување за околу 3-пати (RR=3.241, 95% CI 1.121-9.375). IL-8 маркерот покажаа сензитивност од 85% (17/20), специфичност 82.8% (106/128), позитивна предиктивна вредност 43.6% (17/39) и негативна предиктивна вредност од 97.2% (106/109). Сите пациентки, и предвреме и термински породени, имаа нормални вредности на IL-1 β во амнионската течност.

Заклучок: Предвременото породување зависи од многу причинители. Нивоата на инфламаторните медијатори во амнионската течност земена при медицински индицирана генетска амниоцентеза во второто тримесечје кај асимптоматските пациентки може да служи како добар предвидувачки маркер за настанување предвремено породување.

Клучни зборови: предвремено породување, амнионска течност, цитокини, амниоцентеза, биомаркери.

ABSTRACT

Prediction of preterm birth in asymptomatic patients with inflammatory cytokines in amniotic fluid

Summary: Premature delivery defined as < 37 g.w is a serious obstetric problem that affects 11% of pregnancies worldwide. It is associated with significant neonatal morbidity and mortality. Available risk assessment tests for preterm delivery are incredibly important given the enormous personal, economic and health consequences of preterm delivery. The identification of a specific immune mediator and their concentration in the amniotic fluid in the second trimester in asymptomatic patients has attracted much attention as a potential source for the diagnosis and therapy of this problem. Cytokines (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α) are extremely important in pregnancy and they are produced in the amniotic fluid and are increased if intrauterine inflammation is present.

Objective: The study is to demonstrate the ability of inflammatory mediators IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α in amniotic fluid at the onset of early second trimester (16-22 g.w) to predict preterm delivery (<37 g.w.).

Material and methods: In this prospective, observational longitudinal study, 150 singleton - pregnancy patients who required medically indicated genetic amniocentesis in the early second trimester (16-22 g.w) were included. This study was performed at the Clinic of Gynecology and Obstetrics, Clinic of Immunology and Human Genetics and Institute of Microbiology with Parasitology, Skopje, Republic of Northern Macedonia. An ultrasound examination was performed at the time of entering the study and signing consent to participate in the study. Amniocentesis was then performed with 5 ml of amniotic fluid, which then determined the concentrations of IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , leukocyte count, glucose concentration, Gram staining and amnioculture. Transvaginal cervicometry was measured in all patients and microbiological specimens were collected for cervical and vaginal smears. All patients were followed until the date of their delivery, where the gestation week was accurately noted.

Results: All 150 patients were in the 16-22 g.w. 20 out of 150 patients had preterm births, while 128 patients gave birth at term. Two patients terminated their pregnancy because of a positive test for genetic amniocentesis. Findings of amniotic fluid leukocytes were present in 57.9% (11) of patients before 37 g.w., and 31.25% (128) of patients after 37g.w. Significantly different glucose values were measured in amniotic fluid depending on the gestational week of delivery ($p = 0.038$). In premature infants, these values were significantly lower. TNF- α values showed sensitivity of 65% and specificity of 70.5%. IL-6 concentrations in amniotic fluid were significantly different in preterm and term neonates ($p < 0.0001$). Increased concentrations of IL-6 in amniotic fluid increase the risk of preterm birth by approximately 3-fold. Prediction analysis of preterm delivery using the IL-6 marker showed that the area under the ROC curve was 0.789 (95% CI 0.672 - 0.906), with a sensitivity of 75% (15/20), specificity of 82.8% (106 / 128), positive predictive value 40.5% (15/37), and negative predictive value 95% (106/111). IL-8 in amniotic fluid that showed higher values increased the risk of preterm delivery by approximately 3-fold (RR = 3.241, 95% CI 1.121-9.375). IL-8 marker showed sensitivity of 85% (17/20), specificity 82.8%

(106/128), positive predictive value 43.6% (17/39), and negative predictive value 97.2% (106/109). All patients, both preterm and term, had normal IL-1 β values in amniotic fluid.

Conclusion: Premature birth depends on many causes. Inflammatory mediator levels in amniotic fluid taken in medically indicated genetic amniocentesis in the second trimester in asymptomatic patients may serve as a good predictor of preterm birth.

Key words: preterm delivery, amniotic fluid, cytokines, amniocentesis, biomarkers.

Би сакала да ја изразам мојата неизмерна благодарност на менторката на овој докторски труд, проф. д-р. Елена Трајковска Докиќ за несебичната и професионална академска поддршка во текот на целиот процес на неговата изработка, со што придонесе за мојот професионален развој.

Сакам да изразам голема благодарност и до членовите на комисијата, проф. д-р. Гордана Адамова, проф. д-р. Славјанка Поповска, проф. д-р. Бети Зафирова Иванова и проф. д-р. Глигор Димитров за конструктивните совети и забелешки.

Моите родители заслужуваат огромна благодарност за постојаната поддршка во моите успеси во животот. Оваа докторска дисертација ја посветувам на мојот пример во животот, мојот татко проф. д-р. Љубен Дудески кој ми беше и главна поддршка за изработка на истата. Воедно голема благодарност изразувам на мојата мајка Анастасија, сопругот Игор и моите дечиња Виктор и Мартин кои беа моја главна инспирација и со нивната љубов ми даваа сила и енергија мојата докторска дисертација да стане реалност.

Катерина Николоска

ЛИСТА НА КОРИСТЕНИ КРАТЕНКИ

1. АТ - амнионска течност
2. Г.Н. - гестациска недела
3. П.П.- предвремено породување
4. PPS- спонтано предвремено породување
5. PMS- спонтано терминско породување
6. S.C- царски рез
7. АС- амниоцентеза
8. WHO- Светска здравствена организација
9. MIAT– микробна инвазија на амнионската течност
10. IUGR – интраутерин застој на плодот
11. SGA- мало за гестациската возраст
12. ЦТГ- кардиотокограф
13. RDS- респираторен дистрес синдром
14. FDA- Агенција за храна и лекови
15. GCSF - гранулоцитни стимулирачки фактори
16. MGF- миеломоноцитен фактор на раст
17. ИВФ и ЕТ - ин витро фертилизација и ембриотрансфер
18. fFN- фетален фибронектин
19. Le- леукоцити
20. IL-1 – интерлеукин 1
21. IL-6- интерлеукин 6
22. IL-8 – интерлеукин 8
23. TNF- α - тумор некротизирачки фактор алфа
24. IFN- интерферон
25. PIGF – плацентарен фактор на раст
26. PIGFBP-1- Фосфорилиран инсулин-сличен фактор на раст врзувачки протеин – 1
27. VEGF - васкуларен ендотелијален фактор на раст
28. PAMG-1- плацентарен алфа макроглобулин -1
29. BMI – ИТМ -индекс на телесна маса
30. ACOG- Американски колеџ за гинекологија и акушерство
31. MMP- матрикс металопроотеази

- 32. IP-10 – интерферон гама индуцирачки протеин
- 33. G-CSF- гранулоцитен стимулирачки фактор на колони
- 34. NIPT- неинвазивен перинатален тест
- 35. CMV- цитомегаловирус
- 36. ROC- Receiver operating characteristic

СОДРЖИНА

1. ВОВЕД	14
1.1 Класификација на предвременото породување	15
1.2. Етиологија на предвременото породување	16
1.3. Ризик фактори на предвременно породување	18
1.4. Преваленца на предвременно породување	18
1.5. Дијагностицирање на предвременно породување	19
1.6. Третман на предвременно породување.....	20
1.7. Предикција на предвременно породување.....	25
1.8. Амнионска течност.....	29
1.9. Цитокини.....	32
1.9.1 Интерлеукин – 1 (IL-1).....	34
1.9.2. Интерлеукин – 6 (IL 6).....	36
1.9.3. Интерлеукин – 8 (IL-8).....	37
1.9.4. Тумор некротизирачки фактор – алфа (TNF α).....	38
2. ДИЗАЈН НА СТУДИЈАТА	40
3. ПРЕДМЕТ, МОТИВ И ЦЕЛИ.....	41
3.1 Предмет.....	41
3.2 Мотив	41
3.3 Цели на студијата	41
3.3.2 Секундарни цели на студијата.....	41
3.4 Хипотеза.....	42
4. ПАЦИЕНТИ И МЕТОДИ	43
4.1 Пациенти	43
4.1.1 Инклузиски критериуми	43
4.1.2 Ексклузиски критериуми	43

4.2 Методи.....	44
4.2.1 Анамнеза и физикален преглед.....	44
4.2.2 Следење на пациентките	45
4.2.3 Фетална ултрасонографија	45
4.2.4 Цервикометрија – мерење на должина на грлото на матката.....	46
4.2.5. Цервикални и вагинални микробиолошки примероци	46
4.2.6. Амниоцентеза	49
4.3 Параметри за анализа.....	52
5. СТАТИСТИЧКА ОБРАБОТКА НА ПОДАТОЦИ	54
6. РЕЗУЛТАТИ.....	56
6.1 Резултати од споредбата на групите испитанички породени во термин и предвремено породени	56
6.2 Група 24-та до 28-ма гестациска недела	80
6.3 Група 28-ма до 32-ра гестациска недела	80
6.4 Група 32-ра до 36.6-та гестациска недела.....	81
6.5 Логистичка регресиска анализа	84
6.6 Receiver operating characteristic (ROC) анализа.....	84
6.6.1 TNF- α	84
6.6.2 IL- 6	85
6.6.3 IL-8	86
6.6.4 IL 1- β	87
7. ДИСКУСИЈА	89
7.1 Основни карактеристики на пациентките во испитуваната група	90
7.2 Должина на грлото на матката.....	95
7.3 Микробиолошко испитување на вагинални и цервикални брисеви	97
7.4 Број на леукоцити во амнионската течност	98
7.5 Ниво на глукоза во амнионска течност	99

7.6 Цитокини во АТ	100
7.6.1 TNF- α	101
7.6.2 IL-6	103
7.6.3 IL-8	105
7.6.4 IL-1 β	107
7.7 Комбинирани биомаркери	109
8. ЗАКЛУЧОК.....	112
9. КЛИНИЧКА ПЕРСПЕКТИВА И ИМПЛИКАЦИИ ЗА ИДНИ ИСТРАЖУВАЊА.....	116
10. РЕФЕРЕНЦИ.....	117

1. ВОВЕД

Краток историјат

„Elitomina”(пропуштени месеци) е збор кој се сретнува уште во историските документи на Античка Грција, а се однесува на предвременно родените бебиња¹. Хипократ (460-370 BC) бил прв во историјата кој почнал да се запрашува за одредувањето на појдовната точка на бременоста и нејзиното времетраење, одредувањето на гестациската возраст и на феталната возраст². Многу прашања потекнуваат од тоа време кога научниците како: Хипократ, Гален и Соранус, научно ја опишале бременоста, нејзините компликации и третманите поврзани со нив³. Исто така и „супернаучниците“ како Аристотел и Платон го објаснуваат предвременото породување и неговите компликации².

Дури од тоа време се знаело дека децата кои се родени предвременно односно во шестиот месец или 27-та гестациска недела имаат скоро невозможни можности за преживување. Потоа од седмиот месец⁴ со мали, но можни можности за преживување и од осмиот месец⁵ на бременоста каде преживувањето се сметало за возможно, но не и сигурно. Уште пред 2.500 години за возможна вијабилност на плодот е одредена 26- 28 недела на гестација (г.н.)⁶. Овие тврдења останале точни сè до денешно време⁷.

Според легендата, богот Дионисус не само што е роден предвременно во осмиот месец од бременоста туку е роден и со царски рез и бил мал за гестациската возраст⁸. Татко му, богот Зевс, заедно со богот Хермес го однеле на планината Ниса на нимфите кои го чувале во пештера и кои имале надмоќни сили и претставувала еден вид инкубатор⁹.

Во 1975 со започнувањето на токолитичната терапија, Ингемар Ингермарсон, предложил првичната дефиниција за предвременото породување односно критериумот да треба да вклучува болни регуларни утерини контракции кои се јавуваат во интервали помали од 10 минути, а траат подолго од 30 минути временски период, регистрирани на надворешен токограф и грло на матка на кое му е скратена должината и е отворено повеќе од 2 см, интакти околуплодови овојци и гестациска возраст од 28 до 36 г.н.

Во 1986 година од страна на Гоник и Криси дефинитивни критериуми за дијагноза се поставени и се користат сеуште во литературата односно за постоење на предвременно породување потребни се присутни миометрални контракции на утерусот и промена во статусот на грлото на матката.

Перинатологијата претставува нова медицинска дисциплина која потекнува од 1960-те, а се стреми кон заштита, дијагноза и третман на проблемите на мајката, фетусот и новороденото, пред, за време и по породувањето¹⁰. Предвременото раѓање како дел од перинатологијата претставува една гранка која е исклучително важна не само во медицината туку и во општеството и во која и до денес се прават многу испитувања за нејзин развој и нејзино унапредување.

1.1 Класификација на предвременото породување

Предвременото породување го претставува секое раѓање кое настанува по можна вијабилност на плодот односно 24-та гестациска недела, но пред полна 37-ма гестациска недела. Спонтано настанување контракции или предвременно предтерминско прскање на околуплодовите обвивки се смета за причина во околу две третини од овие раѓања. Секое породување пред 24-та г.н. се смета за спонтан абортус. Моментално сива зона претставува 23-та гестациска недела¹¹.

Предвременото породување сеуште претставува преобладавајќа причина за перинатален морбидитет и морталитет особено тие кои настануваат помеѓу вијабилноста на плодот и 32-та гестациска недела.

Степенот на предвременно раѓање е поделено во неколку групи, кое во денешно време се дели според гестациската недела додека претходно зависело и од телесната тежина на плодот во моментот на раѓање. Односно, тежина од 500 грама се дефинирала како граница на вијабилност на плодот.

Според Светската здравствена организација, дефиниција за предвременно раѓање претставува секое раѓање жив плод пред 37-та гестациска недела на бременоста, а тоа се дели на повеќе категории во зависност од гестациската старост¹¹:

- Екстремно предвременно раѓање (<28 г.н.);
- Рано предвременно породување (28-32 г.н.);
- Средно до доцно предвременно породување (32-37г.н.).

Предвремените раѓања според начинот на настанување се делат на: спонтани и индицирани.

Спонтаните може да настанат со интактни околуплодови обвивки или со предвременно прскање на околуплодовите обвивки. Индуцирани предвремени породувања се тие кои резултираат со индукција поради одредена причина од страна на фетусот или од страна на мајката, како прееклампсија, интраутерин застој на плодот (ИУГР), абрупција и други. Други причини вклучуваат тешки медицински или хируршки компликации на бременоста, конгенитални аномалии, близначка бременост и др.

Од сите предвремени породувања, предвременото породување со интактни мембрани се јавува во 45 % од случаите, со предвременно прснати околуплодови овојци во околу 30 % и индуцирано предвременно породување во 25 % .¹²

1.2. Етиологија на предвременото породување

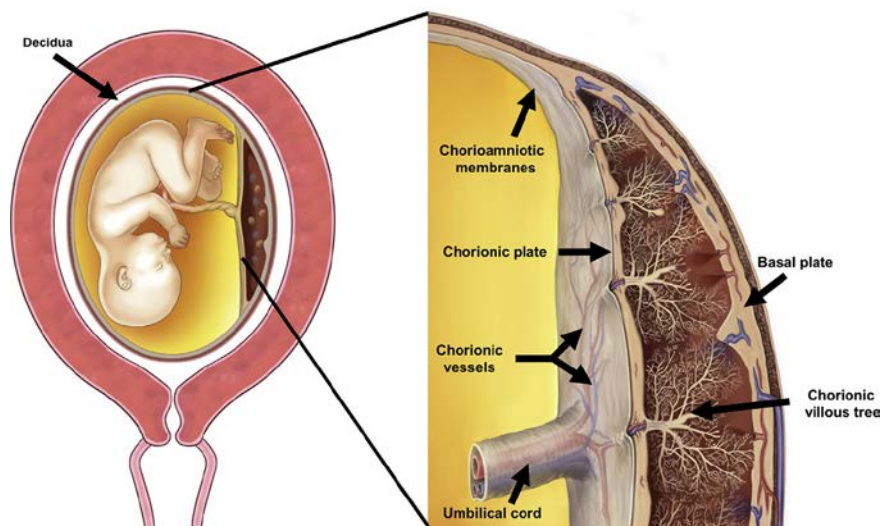
Етиологијата за настанување на предвременно породување варира со гестациската возраст и напредувањето на бременоста.

Кај пациентки кај кои настанува предвременно породување, интраутерина инфламација и инфекција е многу често присутна и води до инфламациски синдром и на плодот. Субклиничка интраутерина инфекција на хориодецидуалниот простор и амнионската течност е најчеста причина за настанување на оваа обстетричка компликација, а со тоа и најчесто испитуван етиолошки фактор (слика 1.1). Утерината празнина е нормално стерилна средина, но вагината содржи нормална бактериска флора. Во зависност од концентрацијата на бактерии и резистентноста на вагината бактериите може да асцендираат од вагината кон цервиксот и да стигнат до феталните мембрани. Може да ја активираат децидуата да направат инфламација, а со тоа и да се активираат инфламаторните медијатори, кои пак потоа ги зголемуваат простагландините, а тие директно делуваат врз миометриумот и

предизвикуваат контракции. Можно е и ослабување на околуплодовите обвивки и нивно прскање. Неонатална сепса, мајчин постпартален ендометрит, хистолошки хориоамнионит се дијагнози кои се значително почести кај предвремените раѓања особено кај тие кои настануваат пред 32-та г.н.¹³.

Освен инфекцијата постојат и други причини за настанување предвременно раѓање, тие се прерастегнатост на утериниот ѕид чиј најчест пример е повеќеплодовата бременост и полихидрамнионот каде поради прерастегнатост на миометриумот и мембраните на околуплодовите овојци настанува зголемување на контрактилната активност на утерусот, а со тоа и скратување на грлото на матката па дури и до негово отворање.

Утероплацентарното крварење, исто така, може да биде причинител за предвременото породување, но исто така, и хируршки процедури на гениталните органи, абнормална утерина празнина, цервикална слабост, сериозни болести кај мајката како пиелонефрити, апендицит, пневмонија, исто така, може да доведат до оваа состојба.



Слика 1.1. Лево прикажан утерус со фетус, плацента и папочна врвка, десно детален опис на плацента. (Benirschke K, et al. 5 Infectious disease. In: Pathology of the human placenta, 6th ed. Berlin: Springer, 2012, 33¹⁴)

1.3. Ризик фактори на предвремено породување

Ризик фактори за настанување на предвременото породување се (табела 1.1)¹⁵:

Табела 1.1 – Ризик фактори за предвремено породување

Висок ризик	Среден ризик	Низок ризик
<ul style="list-style-type: none">• претходно п.п (20 %)• две претходни п.п. (40 %)• близначка бременост (50 %)• утерини абнормалности• аномалии на грлото на матката - скратен цервикс, интервенции на цервикс• крварење во бременоста• болести кај мајката• инвазивни процедури и операции во текот на бременоста	<ul style="list-style-type: none">• паритет• јувенилни бремености• расна припадност• низок социоекономски статус• ниво на едукација	<ul style="list-style-type: none">• пушење• болести на зависност• временски интервал помеѓу две бремености помал од 1 година• ИТМ - низок индекс на телесна маса

1.4. Преваленца на предвремено породување

Преваленцата на предвременото породување се јавува во 5 до 18% од бременостите и е главна причина за неонатален морбидитет и морталитет. Многу докази укажуваат дека предвременото породување е во голема зависност од социоекономскиот фактор на државата, на пример: стапката е најниска во Скандинавските земји – 5 %. Сепак и со развој на општеството и технологиите во светот сеуште нема докази дека процентот опаѓа, напротив стапката на предвремено родените деца полека се зголемува, можеби и како дел во зголемување на стапката на предвремено родени повеќе плодни бремености.

Предвремените раѓања придонесуваат значајно во зголемување на перинаталната смртност, а половина од нив припаѓаат на деца родени пред 32 г.н. Како се зголемува гестациската недела така се намалува морбидитетот и морталитетот^{15,16}.

1.5. Дијагностицирање на предвременно породување

Симптоми и знаци на предвременото породување се: зголемена утерина контрактилност, промена во статусот на грлото на матката (дилатација и должина), и промена во состојбата на околуплодовите овојци.

Поставување дијагноза за предвременото породување е од голема важност како за плодот така и за мајката. Постоене на предвременно породување е суспектно кај трудници кои се пред 37 г.н., а имаат симптоми на¹⁷:

- Зголемена утерина контрактилност, која се дијагностицира со помош на токодинамометар односно ЦТГ апарат на кој се регистрираат контракциите на утерусот. Тие треба да бидат болни регуларни утерини контракции кои се јавуваат во интервали помали од 10 мин., а траат подолго од 30 минути.
Сами по себе утерините контракции не се дефинитивен доказ за поставување на дијагнозата и треба да бидат проследени со некои од другите знаци.
- Должина на грлото на матката односно должина помала од 25 мм. Ова се дијагностицира со трансвагинална сонда на ултразвучен апарат со кој точно се мери должината на грлото на матката. Многумина ова го сметаат како најважен параметар во дијагнозата. Должината на грлото на матката > 30 мм се смета за должина со низок ризик за предвременно породување односно ризик од 5%¹⁸. Наспроти ова кај должина < 15 мм постои ризик за предвременно породување од 63 %¹⁸. Односно, пократко грло на матка поголем ризик од предвременно породување. Исто така, пократко грло на матка и помала гестациска возраст поголем ризик од појава на интраутерина инфекција.
- Дилатација на грлото на матката односно дилатација повеќе од 1- 2 см. Ова се дијагностицира со мануелен дигитален преглед.
- Присуство на вагинално крварење, кое доколку постои треба внимателно да се процени под спекулум и да се реагира во зависност од итноста.
- Карличен притисок или болка.
- Предвременно прематурно прскање на околуплодовите обвивки претставува секое прскање на обвивките пред 37 г.н. Дијагностицирање

на истекување на околуплодовата течност е од големо значење поради третманот кај него и пристапот кон овие пациентки. Негова дефинитивна дијагноза се поставува со преглед под стерилен спекулум. Истекување околуплодова вода од грлото на матката низ вагината е дефинитивна дијагноза. Доколку не сме сигурни за дефинитивно истекување тоа можеме да го потврдиме или исклучиме со тест со нитразин стапчиња. Амнионската течност е алкална додека вагината е обично кисела. Присуство на зголемена Ph во вагината е дефинитивна дијагноза за предвремено прематурно прскање на околуплодовите обвивки.

- Вагинален и цервикален микробиолошки примерок е од голема помош за детектирање инфективни причинители на предвременото породување. Присуство на бактериска вагиноза, *Streptococcus group B (GBS)*, *Neisseria gonorrhoea*, *Trichomonas vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum* и *Chlamydia trachomatis* се поврзани со зголемен ризик за предвремено породување.
- Испитување крвен притисок, пулс и температура на мајката е од примарно значење поради многубројните компликации кои можат да се јават.
- Амниоцентеза односно примерок од амнионска течност може да биде искористен за евалуација на многу параметри во амнионската течност и докажување постоење интраамниоска инфекција која може да доведе до хориоамнионит.

Лажно или заканувачко предвремено породување се јавува кај дури 15 % од сите трудници, но сепак тие се породуваат во термин^{18,19}.

1.6. Третман на предвремено породување

Кортикостероиди

Моменталните докази укажуваат на тоа дека единечна доза на кортикостероиди односно две администрирања на 24 часа разлика помеѓу 28 г.н. -34 г.н. даваат одличен исход во состојбата на новороденчето доколку раѓањето настане во следните 7 дена од терапијата. Ова првенствено се должи на намалувањето на појавата на РДС. Најдобар исход се гледа при

администрација пред 48 часа пред раѓањето. Дози примени на помалку од 48 часа или повеќе од 7 дена од раѓањето сепак имаат бенефит, но значајно помал. Давањето кортикостероиди помеѓу 24 г.н. -28 г.н., дава резултат, но со помал бенефит. Под 24 г.н. оваа терапија не е индицирана²⁰.

Постојат неоспорливи докази за бенефитот од оваа терапија администрирана во една доза следејќи ги новороденчињата и по нивното раѓање додека давањето кортикостероиди во повеќе дози е третман кој веќе се напушта со силни докази за штета по новороденото¹⁹.

Токолиза

Претставува употреба на фармаколошка терапија која ги инхибира утерините миоетрални контракции, а со тоа ја продолжува бременоста и го намалува неонаталниот морбидитет и морталитет.

Токолизата може да ја продолжи бременоста од 48 часа до 7 дена. Ова продолжување претставува голем бенефит бидејќи во тој период имаме време да дадеме кортикостероидна терапија и да ја префрлиме пациентката во терциерна здравствена установа²⁰. Користени лекови за токолиза, механизмот на делување, припадноста на групи лекови, нивните контраиндикации, несаканите ефекти врз мајката и плодот се прикажани во табела 1.2²¹.

Табела 1.2: Токолитици

Лек	Механизам на делување	Опис	Можни контраиндикации	Несакани ефекти врз мајката	Несакани ефекти врз плодот
Terbutalin е Brethine	β_2 агонист	лек на избор при низок ризик од п.п.	срцева аритмија, дијабет	кардиолошки или кардиопулмонални аритмии, пулмонален едем, миокардијална исхемија,	фетална тахикардија, хиперинсулинемија, хипогликемија, миокардијална и септална хипертофија,

Лек	Меха- низам на делу- вање	Опис	Можни контраинди кации	Несакани ефекти врз мајката	Несакани ефекти врз плодот
				хипертензија, та хикардија, смрт	миокардијална исхемија.
Ritodrine (Yutopar)	β_2 аго- нист	зобра- нет од FDA	неконтро- лиран дијабет и тиреоидни болести	хипергликемија, хипер- инсулинемија, хипокалемија, антидиуреза, нарушување на тироидна жлезда, тремор, палпитации, повраќање	тахикардија, хипогликемија, хипербили- рубинемија, хипотензија, интра- вентрикуларна хеморагија
Fenoterol	β_2 агонист		дијабет		
Sal- butamol	β_2 агонист		дијабет		
Hexopren- aline (Gynipral)	β_2 агонист	зобра- нет од FDA	хипертирои дизам, кардио- васкуларни заболува- ња, глауком,	вертиго, немир, тремор, тахикардија, хипотензија, хипергликемија, едем	хипогликемија, bronхоспазам, анафилактичен шок

Лек	Меха- низам на делу- вање	Опис	Можни контраинди кации	Несакани ефекти врз мајката	Несакани ефекти врз плодот
			плацента- рна абрупција, вагинално крварење, бременост во прво тримесечје		
Nifedipine (Procardia , Adalat)	блокатор на калци- умови канални	еден од најчесто употребу ваните токолити ци	кардиолош ки заболувањ а, не смее да се користи заедно со магнезиум сулфат.	главоболка, наузеа, вртоглавица, хипотензија.	нема
Atosiban	анта- гонист на оксито- цински рецепто- ри		слични на β 2 агонистите		

Лек	Меха- низам на делу- вање	Опис	Можни контраинди кации	Несакани ефекти врз мајката	Несакани ефекти врз плодот
Indometha cin	несте- роиден анти- инфлама тор		во доцна бременост е контра- индициран	наузеа, желудечни тегоби	затворање на дуктус артериозус, пулмонална хипертензија, реверзибилно намалување во бубрежната функција, интра- вентрикуларна хеморагија, хипербилирубине мија, некротизиращки ентероколит.
Magne- sium sulfate	инхиби- тор на лесниот ланец на мио- зинот	се покажал како неефект ивен во одложув ањето на п.п.	апсолутна контраинди кација при миастенија гравис	летаргија, главоболка, мускулна слабост, диплопија, сува уста, пулмонален едем, кардиак арест	летаргија, хипотонија, респираторна депресија, деминерализација

Антибиотици

Антибиотик со широк спектар на делување, како против аеробни така и против анаеробни бактерии, неопходно е при присуство на докажана инфекција како хориоамнионит. Улогата на антибиотиците при недокажана инфекција е многу помалку јасно. Администрација на антибиотици кај бремености помали од 37 г.н. со интакти околуплодови обвивки не е оправдано²².

Цервикален церклаж

Кога кај пациентката постои дилатација на цервикалниот канал и негово скратување пред можна вијабилност на плодот и интакти околуплодови обвивки, идејата за поставување цервикален церклаж звучи логична. Поставување итен цервикален церклаж подоцна во бременоста е со лоша прогноза и зголемен ризик на цервикална дилатација при инсерција на конецот. Исто така, и самата процедура може да биде технички тешка. Успехот на поставување цервикален церклаж над 26 г.н. е помалку од 50 %.

Прогестерон

Докажано е дека овој хормон е инволвиран во поддршка на бременоста. Исто така, претставува антиинфламатор и е добар лек на избор во бременоста. Сите студии докажуваат дека употребата на прогестеронот ја намалува стапката на предвременото породување²³.

1.7. Предикција на предвременно породување

Најсилен предиктор на предвременно породување претставува историја на претходно предвременно породување или пак постоење на претходен доцен абортус. Тогаш можностите за настанување на предвременно породување се дури и до 32 %.

Ултразвучен преглед: Трансвагинален преглед со ултразвучна сонда за мерење на должината на грлото на матката која долго време се користи како корисна

алатка за предикција на предвременото породување. Моментално сите светски клинички патеки покажуваат консензус во границата за должината на цервиксот односно цервикална должина < 25 мм се зема како скратен цервикс односно вредноста како намалена²⁴. Колку пократка должина на грлото на матката толку поголем ризик за предвременно породување. Намалена должина на грлото на матката се смета за еден од најсилните предиктивни знаци за предвременно породување. Повеќе мерења на должината на цервиксот пред 24 г.н. сигнификантно ја подобрува предикцијата за предвременно породување отколку само едно изолирано мерење по 24 г.н. Должината на грлото на матката физиолошки се скратува со зголемување на гестациската возраст. Што порано се дијагностицира негово намалување толку е посилен предиктивната вредност. Сепак, мета анализите на скрининг на должината на грлото на матката се лимитирани поради варијабилноста на гестациската возраст во која мерењето било направено во различните пресечни (cut-off) вредности варирајќи од 15 до 30 мм и во дефинираната група на гестациска недела на предвременно породување. Мерење на должината на грлото на матката е и во зависност од искуството на изведувачот. Исто така, постојат и конфликтни докази за дефинирање најсоодветна гестациска недела за мерење на овој параметар и дали има бенефит да се изведува кај целата популација односно кај тие жени кај кои не постои ниту еден ризик фактор²⁵.

Други ултразвучни параметри

Ултразвучна детекција на густа хиперехогена содржина во амнионската течност близу до внатрешното устие на цервиксот е познато како цервикален амнионски слач. Тој претставува независен предиктор на предвременно породување, а доколку постојат и други ризик фактори тогаш веројатноста за тоа да настане силно се зголемува^{25,26}.

Биомаркери

Фетален фибронектин - fFN претставува биомаркер кој се испитува во поново време за да се пресмета ризикот за предвременно породување. Тој претставува екстрацелуларен матрикс гликопротеин таканаречен лепак кој ги

поврзува хориодецидуалните мембрани. Ретко е присутен помеѓу 23 г.н. -34 г.н. Но, при секое активирање на хориодецидуалниот дел на околуплодовите обвивки настанува негово ослободување и присуство во цервикагиналниот слуз²⁷.

(PIGFBP-1) Phosphorylated insulin-like growth factor binding protein-1

Овој биомаркер се синтетизира во плацентарната децидуа и се ослободува во цервикагиналниот слуз при појава на контракции како резултат на оштетување на хориодецидуалните врски. Студија изведена со 42 пациентки покажува дека тестот има предиктивна моќ со сензитивност и специфичност од 67% и 77 % соодветно. Најдобра предиктивна вредност овој маркер покажува кога се употребува заедно со мерење на должината на грлото на матката²⁷.

PAMG-1- Placental alpha-macroglobulin-1

Тој е гликопротеин кој се синтетизира во децидуата, а се детектира во амнионската течност. Иако се потребни многу поголеми студии за докажување на предиктивната моќ на овој биомаркер, првичните резултати покажуваат дека неговата моќ е голема²⁷.

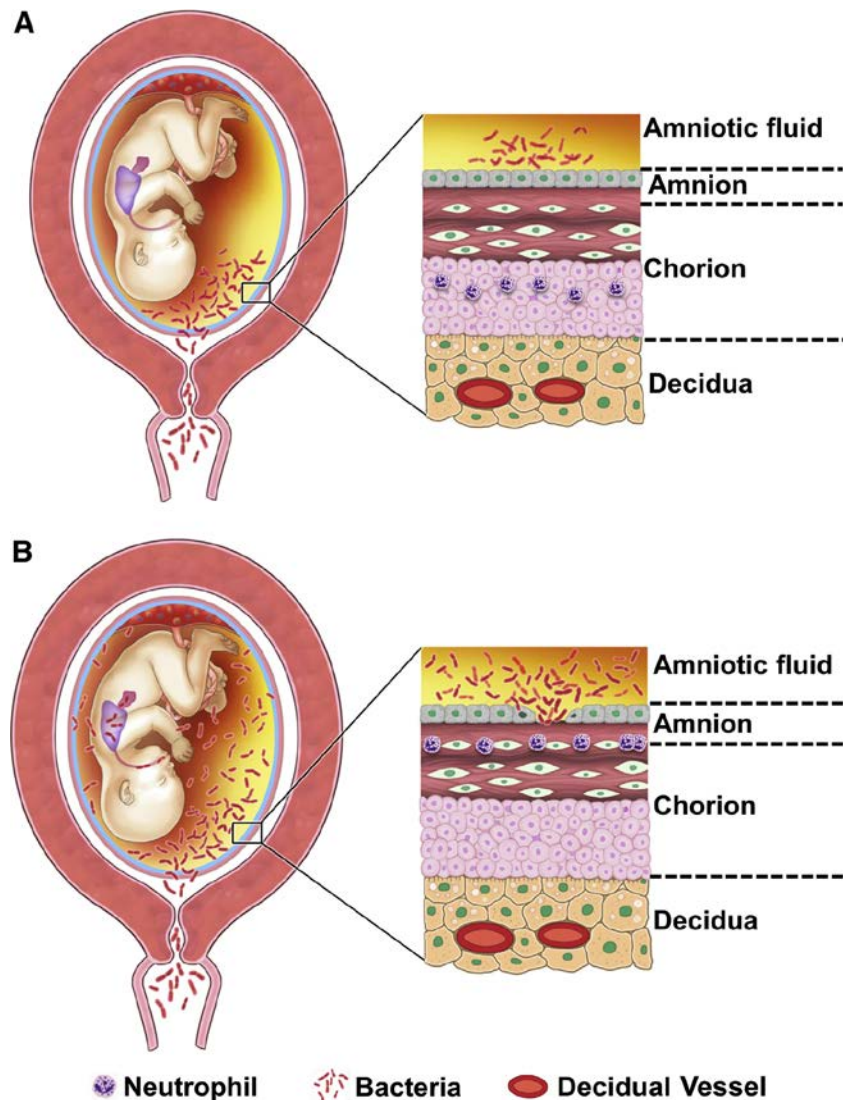
Цервикагинално ацетатно ниво

Овој маркер се покажува како корисен во предикција на предвременото породување кај симптоматски пациентки. Ацетатот се произведува во големи мери во вагиналната флора кај трудници каде доминираат мешани анаероби. Во тек е изработка на спектрофотометриски кит за дијагностика на овој биомаркер, кој заедно со феталниот фибронектин и должина на цервиксот би можел да биде од големо значење²⁷.

Инфламаторни маркери и цитокини

Предвременото породување е силно поврзано со инфламацијата и инфекцијата (слика 1.2.) и затоа големо внимание е посочено на детерминирање на алтернативни биомаркери кои можат да го идентификуваат раниот инфламациски процес кој се јавува кај асимптоматски пациентки. Зголемени вредности на IL-6 во крвта и во амнионската течност е детектиран

во второто тримесечје кај асимптоматски пациентки кој ќе развијат инфламаторен синдром, а ќе се породат предвремено²⁹.



Слика 1.2. Развој на интраамнионска инфламација во амнионската празнина.
Kim MJ, Romero R и соп¹⁵.

Микробиолошки геноми

Поврзаноста помеѓу вагиналната микрофлора и изолирањето одредени геноми е од голем интерес последниве години бидејќи може да го предвиди ризикот за предвремено породување кај асимптоматските пациентки. Сепак, поради високата цена на овој тест каде треба да се изолира бактериска 16S DNA со техника на секвенционирање, овој тест нема широка примена. Други слични тестови вклучуваат тие во кои се изолира специфичен вагинален метаболит на микро-RNA²⁷.

1.8. Амнионска течност

Амнионската течност претставува стерилна средина кај нормална бременост. Таа е комплексна телесна течност која има многу значајна улога во секоја бременост. Нејзината функција за плодот е³⁰:

- првенствено нутритивна и протективна течноста го заштитува плодот од надворешниот притисок однесувајќи се како апсорбер на шок,
- амнионската течност ја контролира температурата, го држи плодот затоплен и ја одржува постојана неговата температура,
- прави контрола на инфекциите со тоа што содржи антитела кои го штитат плодот од инфекции,
- учествува во развој на белите дробови и дигестивниот систем, по пат на голтање на амнионската течност, плодот ги користи мускулите на овие системи и потпомага во нивниот развој,
- развој на мускулите и коските во амнионската течност, плодот има слобода да се движи полесно развивајќи ги овие органи,
- поддршка на папчната врвка – таа превенира нејзина компресија, а самиот папчаник транспортира храна и кислород за плодот,
- дијагностичка - нејзиниот состав се менува во текот на прогредирање на бременоста. Содржи исклучиво важни и комплексни супстанции кои се есенцијални за нормален фетален развој³¹.

Амнионската течност потекнува од мајчината плазма која преминува преку феталните мембрани со помош на осмотски и хидростатски притисок. Кога феталните бубрези почнуваат да функционираат околу 16-та г.н., феталната урина, исто така, учествува во течноста. Амнионската течност се апсорбира преку феталното ткиво и кожата. По 25-та г.н. кога настанува кератинизација на кожата на фетусот, течноста се апсорбира преку феталните црева.

Составот на амнионската течност во почетокот на бременоста е вода со електролити, но околу 12 г.н. -14 г.н. течноста почнува да содржи и протеини, јаглехидрати, липиди, фосфолипиди и уреа, сите потребни за раст и развој на плодот.

Количината на амнионската течност зависи од гестациската недела и расте со растењето на фетусот. Од 10-та г.н. до 20-та г.н се зголемува од 25 мл до 400 мл. Достигнува плато од околу 800 мл. во 28 г.н. -36 г.н, а потоа полека се намалува до 400мл во 42 г.н²⁸.

Клиничка значајност на амнионската течност

Примерок од амнионската течност за дијагностички цели се зема по пат на процедура наречена амниоцентеза. Долга игла за амниоцентеза се внесува преку абдоменот на мајката во амнионската течност под контрола на ултразвук, така што фетусот нема да биде повреден. Амниоцентезата е процедура која се изведува само под точно одредена медицинска индикација и потреба, при што 20 - 30 мл течност се земаат за понатамошно испитување³¹.

Анализа на амнионската течност првенствено се изведува за генетска анализа на плодот, но и гестациската старост и вијабилноста на плодот. Амнионската течност содржи метаболити и фетални клетки кој ни укажуваат на зрелоста на белите дробови. Амнионската течност нормално има рН од 7,0 до 7,5.

Амнионската течност одамна се користи за дијагностицирање на интраамнионска инфламација која тесно е поврзана со настанување на предвремено породување. Индикатори кои сугерираат за постоење инфламација се зголемено ниво на матриксметалопротеинази (пр. MMP-8), зголемени интерлеукини (пр. IL-1, IL-6, IL-8), TNF- α , IP-10 (interferon gama – inducible protein), Granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF), зголемени леукоцити, ниски нивоа на глукоза и др³².

Присуство на бактерија или микробна инвазија во амнионската течност - МИАТ е генерално поврзана со патолошка состојба на бременоста. МИАТ е присутна во приближно 10 % од случаите на превремено породување со интактни околуплодови обвивки, во 33 % со предвремено прскање на околуплодовите обвивки, во приближно 50 % кај пациентки со инсуфициенција на грлото на матката, во 9 % со асимптоматски кратко грло на матка³³.

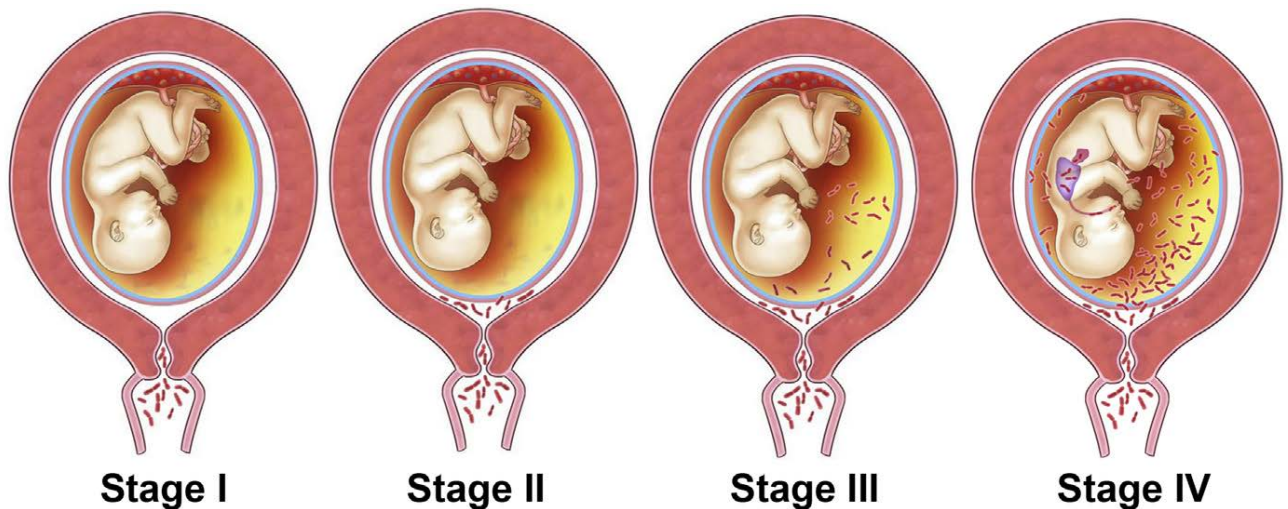
Глукоза во амнионска течност

Ниска концентрација на глукоза се користи како маркер за откривање инфекција во цереброспинална течност. Неодамна почнува да се истражува нивото на глукоза во амнионска течност во откривање микробна инвазија на амнионската празнина кај пациенти со предвремено породување и предтерминско прематурно прскање на околуплодовите обвивки³⁴.

Активирани леукоцити и бактерии се потребни за да се намали концентрацијата на глукоза во амнионската течност. Со тоа е јасно дека присуството на бактерии и леукоцити во амнионската течност може да резултираат со намалени концентрации на глукоза. Средна концентрација на глукоза во амнионска течност кај нормална бременост се зголемува помеѓу 14-та и 17-та недела од бременоста, а потоа постојано се намалува кон терминот. Концентрацијата на глукоза во амнионската течност може да се покачи кај дијабетична бременост и да се намали во бремености комплицирани со рестрикција на растот или фетална малформација. Сите трудови објавени до денес во врска со концентрацијата на глукоза во амнионската течност при откривање микробна инвазија на амнионската празнина пријавиле различни прагови на глукоза со ниска концентрација на глукоза^{35,36}.

Леукоцити во амнионската течност

Бројот на белите крвни клетки се корисни за дијагностицирање инфекција во телесните течности како што се: цереброспинална течност, синовијална течност, плеврална течност, но и амнионската течност. Наодите кои ја испитуваат вредноста на леукоцитите во амнионската течност во дијагнозата на микробна инвазија на амнионската празнина имаат спротивставени резултати. Испитувањата покажуваат силна врска помеѓу леукоцитите во амнионската течност и микробиолошката инвазија на амнионската празнина, слика 1.3.^{37,38}.



Слика 1.3. Фази на интраутерина микробна инвазија
Kim. Acute inflammatory lesions of the placenta. Am J Obstet Gynecol 2015¹³.

Фазата I во процесот на инфекција одговара на промената на вагиналниот / цервикалниот микробиом или присуството на патолошки организми во грлото на матката. Откако микроорганизмите ќе добијат пристап до амнионската празнина, тие престојуваат во долниот пол на матката помеѓу мембраните и хорионот (фаза II). Микроорганизмите продолжуваат преку амнион во амнионската празнина што доведува до интраамнионска инфекција (фаза III). Микроорганизмите можат да го нападат фетусот и по други патишта (фаза IV).

1.9. Цитокини

Цитокините припаѓаат во групата на мали протеини кои се значајни во клеточно сигнализирање. Тие се пептиди и не можат да ја поминат липидната пречка на клетките за да влезат во цитоплазмата. Цитокините се инволвирани во автокрината, паракрината и ендокрината сигнализација на имуномодулирачките соединенија³⁹. Тие се разликуваат од хормоните, но нивната дефинитивна разлика сеуште се истражува⁴⁰. Цитокините се поделени на хемокини, интерферони, интерлеукини, лимфокини и тумор некротизирачки фактор. Интерлеукините своето име го добиле по нивната функција за меѓусебно комуницирање со леукоцитите. Цитокините се продуцираат од страна на широк спектар клетки, но најчесто имунолошки клетки како

макрофаги, Б- лимфоцити, Т- лимфоцити, мастоцити како и ендотелни клетки, фибробласти и стромални клетки. Тие делуваат преку рецептори и се исклучително важни во имуниот систем⁴¹.

Цитокините се однесуваат како силни молекули кои се ослободуваат од клетките, се транспортираат до други делови на организмот и делуваат на функцијата на други клетки што доведува до бројни биолошки реакции.

Секоја жива клетка со јадро во човечкиот организам создава цитокини чиј вид и количина на секреција зависи од типот и степенот на диференцијација на клетките односно од степенот на нејзиниот активационски стадиум. Создавањето на цитокините е поттикнато од антиген специфична активација на лимфоцитот Т₄⁴².

Тие се важни во состојба на здравје, но и на болест особено во одговорите на пациентите на инфекција, имунолошки реакции, воспаленија, траума, сепса, карцином и репродукција⁴³.

Зборот потекнува од грчкиот јазик : цито „κύτος“ „празнина, ќелија“ + кини, „κίνησις“ кинезис „движење“.

Се смета дека цитокините играат важна улога во воспоставувањето и одржувањето на бременоста. Развиен полуалоген фетус е потенцијална цел за имунолошкиот систем на мајката каде постои антиинфламаторна пристрасност на цитокинет кај фетоматерналната површина⁴⁴. Се смета дека цитокините спречуваат отфрлање од потенцијален воспалителен одговор. Присуство на цитокини во амнионска течност, исто така, е индикативно за вирусна или бактериска инфекција, како и предвремено породување и прееклампсија. Сепак, значењето на очигледното покачување на проинфламаторните цитокини, како што се: IL-1 IL-6, IL-8, IL-15 и тумор некротизирачки фактор (TNF), е непознат заради недостаток на објавени референтни вредности на цитокини во амнионска течност. Многу студии покажаа дека покачени нивоа на цитокини во амнионска течност во средината на бременоста е поврзано со интраутерина инфекција (16–22 г.н.) каде концентрациите на IL-6 беа значително покачени во амнионски течности кои содржат докази за присуство на *Mycoplasma hominis* од PCR-ELISA, но не и од *Ureaplasma urealyticum* — што сугерира дека активирањето на IL-6 од страна на *Mycoplasma hominis* може да

обезбеди антиинфламаторен механизам за организмот да напредува во амнионската средина⁴⁵. Сузуки и сор. откриле значително покачени нивоа на проинфламаторни IL-6 и IL-8 во амнионска течност во вториот триместар кај пациенти со интраутерина инфекција кои биле подложени на амниоцентеза, споредено со тие без инфекција. Според тоа, мерење на нивоата на одредени цитокини во амнионската течност би биле корисни за откривање тешки инфекции во матката. Клиничка дијагностика и компаративни истражувања ќе бидат потпомогнати за појасна слика за почетните концентрации на цитокини во текот на вториот триместар на бременоста, временската точка кога најмногу се изведуваат амниоцентезите. Сепак, не постојат нормативни квантитативни податоци во тековната литература за одредени цитокини во амнионски течности земени од 16 г.н. - 22 г.н.^{46,47}.

1.9.1 Интерлеукин – 1 (IL-1)

Семејството IL-1 е група од 11 цитокини што предизвикува комплексна мрежа на проинфламаторни цитокини кои преку леукоцитите и ендотелијалните клетки ги регулира и иницира воспалителните одговори. IL-1 α и IL-1 β се најистражуваните членови затоа што прво биле откриени и затоа што поседуваат силен проинфламаторен ефект. Тие имаат природен антагонист IL-1Ra (антагонист на рецепторот IL-1). Сите три го врзуваат IL-1 рецепторот (IL-1R) и активираат сигнализација преку адаптерот MyD88. IL-1Ra ја регулира IL-1 α и IL-1 β проинфламаторната активност со тоа што се натпреварува со нив за места за врзување на рецепторот⁴⁸.

Девет членови на суперфамилијата IL-1 се јавуваат во еден кластер на човечкиот втор хромозом. На овој начин, IL-1 β , IL-1 α , IL-36 α , IL-36 β , IL-36 γ , IL-36RA, IL-37, IL-38 и IL-1RA се многу веројатно членовите на семејството со предок кои имаат заедничка лоза. Сепак, IL-18 и IL-33 се на различни хромозоми и нема доволно докази за низа или хромозомска анатомија што сугерира дека тие го делат заедничкото потекло. IL-1, IL-33 и IL-18 се вклучени во IL-1 суперфамилијата заради структурни сличности, совпаѓање во функција и рецептори вклучени во нивната сигнализација⁴⁹.

IL-1 се произведува од ткивни макрофаги, моноцити, фибробласти и дендритични клетки, но исто така, се изразува со Б лимфоцити, клетки природни убијци, микроглија и епителни клетки. Тие играат важен дел од воспалителниот одговор на телото против инфекција. Овие цитокини го зголемуваат изразувањето на факторите на адхезија на ендотелните клетки за да овозможат трансмиграција (исто така наречена дијапедеза) на имунокомпетентни клетки, како што се: фагоцити, лимфоцити и други, на местата на инфекција. Тие, исто така, влијаат врз активноста на хипоталамусот, терморегулаторниот центар што доведува до пораст на телесната температура (треска). Затоа IL-1 се нарекува ендеген пироген. Покрај треска, IL-1 предизвикува и хипералгезија (зголемена чувствителност на болка), вазодилатација и хипотензија⁵⁰.

IL-1 α

IL-1 α е „citoкин со двојна функција“, што значи дека игра улога во јадрото со тоа што влијае врз транскрипцијата, освен неговите екстрацелуларни ефекти со посредство на рецептор како класичен цитокин. Во оваа група спаѓа и IL-33. IL-1 α се синтетизира и се чува во цитоплазмата на клетките со мезенхимално потекло и во епителните клетки. Напротив, моноцитите и макрофагите не содржат преформирани прекурсори на IL-1 α , туку наместо тоа бараат десинтеза. Присуство на IL-1 α во одредена клетка може да активира инфекција, повреда, исхемија, хипоксија, ацидоза и комплементарна лиза⁵¹.

Воспалителните одговори во отсуство на инфекција (како што е исхемија) зависат само од сигнализацијата на IL-1 α преку рецепторот IL-1R. IL-1 α , исто така, ја стимулира транскрипцијата и секрецијата на IL-1 β од моноцити, така што иницијаторот на имунолошкиот одговор е веројатно претходник на IL-1 α преку индукција на инфилтрација на неутрофили. IL-1 β се чини дека е засилувач на воспалението со регрутирање макрофаги во контекст на стерилно воспаление⁵².

IL-1 β

IL-1 β се синтетизира како претходник (прекурсор) во форма на протеин само по стимулација, за разлика од IL-1 α . Синтезата на претходникот на IL-1 β е предизвикана од стимулирање вродени имунолошки клетки од страна на Toll-рецептори (TLRs) или RIG-рецептори (RLRs), но за да се добие можност за врзување на IL-1 рецепторот, претходникот IL-1 β треба да се расчисти со протеинолиза на цистеин, наречена Каспаза-1. Значи, за секрецијата на IL-1 β треба да се активираат овие два чекори и да се различни рецептори. Под посебни околности, IL-1 β може да биде обработено и од други протеази, како при високи воспалителни неутрофили.

Во однос на присуство на IL-1 β во амнионската течност, веќе одамна е докажано дека тој е произведен од епителни клетки на амнион, хорион, синцитиотрофобласт и молекули на проктокин, расцепена со Каспаза-1 во нејзината активна форма. Покрај тоа, докажано е дека високи нивоа на IL-1 β се присутни во примероци на амнионска течност со забележливи бактерии. IL-1 β е важен регулатор на миоетрискиот CRH рецептор -1 израз на генот, факт што може да игра улога на матката да настане промена од стабилна состојба да доведе до контракции и породување. Исто така, индиректно ја зголемува и секрецијата на окситоцин во примарни култури преку патеката на циклооксигеназа-2. IL-1 β , а исто така и го подобрува MMP-1 и MMP-3 во децидуални клетки, што може да доведе до предвремено прскање на околуплодовите овојци⁵³.

1.9.2. Интерлеукин – 6 (IL 6)

Интерлеукин 6 (IL6), исто така, познат како стимулативен фактор на Б-клетки-2 (BSF-2) или интерферон бета-2, е цитокин вклучен во широк спектар на биолошки функции. Тој игра суштинска улога во конечното диференцирање на Б-клетките во клетки што лачат имуноглобулини, како и поттикнување раст на миелом/плазмацитом, диференцијација на нервните клетки и хепатоцитите. Голем број други цитокини може да се групираат со IL-6 врз основа на сличност на секвенцата. Овие вклучуваат гранулоцитни стимулирачки фактори (GCSF) и миеломоноцитен фактор на раст (MGF). GCSF делува во хематопоезата со

влијанието врз производството, диференцијацијата и функцијата на 2 поврзани групи бели крвни клетки во крвта. MGF, исто така, делува во хематопоеза, стимулирајќи ја размножување и формирање колонија на нормални и трансформирани клетки на миелоидната лоза. Цитокините од семејството IL6 / GCSF / MGF се гликопротеини од околу 170 до 180 остатоци на аминокиселини кои содржат четири конзервирани остатоци од цистеин вклучени во две дисулфидни врски. Тие имаат компактен, глобуларен преклоп (сличен на другите интерлеукини), стабилизирани од двете врски со дисулфид.

Концентрациите на IL – 6 во амнионска течност се супериорни во однос на вредноста на белите крвни клетки, глукозата, боењето по Gram и идентификувањето на интраамнионските инфекции и микробната инвазија на амнионската празнина. Покрај тоа, дури и во отсуство на докажани микроорганизми во амнионската празнина, а покачените концентрации на IL-6 во амнионската течност се поврзани со зголемен ризик од ризична бременост, во контекст на појава на: предвремени контракции, предвремено прскање на околуплодовата обвивка и скратена должина на грлото на матката. Така, концентрациите на IL-6 во амнионската течност имаат и дијагностичка и прогностичка вредност. Во моментот, обично се потребни часови за да се утврдат концентрации на IL-6 во амнионската течност, а резултатите честопати се недостапни за пациентите бидејќи се и најчесто во научни цели⁵⁴.

1.9.3. Интерлеукин – 8 (IL-8)

Интерлеукин 8 (IL8 или хемокин (C-X-C) лиганд 8, CXCL8) е хемокин произведен од макрофаги и други типови клетки, како што се: епителните клетки, клетките на мазните мускули на дишните патишта и ендотелијалните клетки. Ендотелните клетки го чуваат IL-8 во нивните везикули за складирање. Кај луѓето, IL-8 протеинот е кодиран од генот CXCL8. IL-8 првично се произведува како претходник пептид од 99 аминокиселини кои потоа се подложува на расцеп за да се создадат неколку активни IL-8 изоформи.

Постојат многу рецептори на површинската мембрана способни за врзување на IL-8, а најчесто проучуваните типови се: G протеини споени со серпентини рецептори CXCR1 и CXCR2. Изразување и афинитет за IL-8 се

разликува помеѓу двата рецептори (CXCR1 > CXCR2). Преку синџир на биохемиски реакции, IL-8 се излучува и е важен посредник на имунолошката реакција во одговорот на вродениот имунолошки систем.

IL-8 е клучен медијатор поврзан со воспаление каде игра клучна улога во регрутирање неутрофили и дегранулација на неутрофили. Како пример, тој е наведен како провоспалителен медијатор во инфекции поврзани со предвремена бременост, а неговото присуство во амнионска течност.

Присуството на IL-8 во амнионската течност укажува на тоа дека овие цитокини се вклучени во важни имунобиолошки настани релевантни за второто и третото тримесечје од бременоста. Феталниот развој кај некомплицирани бременост се јавува во отсуство на инфекции во амнионската течност и микробиолошка колонизација, затоа сè уште студиите сугерираат дека матката и амнионската течност претставува „стерилна утроба“.

Како и да е, сегашните докази за стерилно интраутерино опкружување се неконклузивни и степенот до кој и како инфекцијата на мајката влијае врз плодовиот имунолошки развој и состојбата на новороденчето сè уште не е јасен^{55,56}.

1.9.4. Тумор некротизирачки фактор – алфа (TNF α)

Примарната улога на TNF- α е во регулирање на имуните клетки. TNF- α како ендоген пироген е во состојба да предизвика треска, апоптотична смрт на клетки, кахексија, воспаление и да ја инхибира тумор генезата и репликацијата на вирусот како и да одговори на сепса преку клетки што произведуваат IL1- и IL6. Нерегулираното производство на овој фактор е вмешан во најразлични човечки заболувања вклучувајќи: Алцхајмерова болест, карцином, депресија, псоријаза и инфламаторно заболување на цревата.

Во бременоста TNF- α , провоспалителен Th1-citoкин, игра голема улога во воспалителниот механизам кој ја регулира имплантацијата, плацентацијата и на крајот учествува во исходот од бременоста. TNF- α се излучува не само со вродени имунолошки клетки, но исто така, и од плацентата. Точно рамнотежа помеѓу Th1 цитокини, главно TNF- α , Th17 и Th2 цитокини, особено IL-10 е од суштинско значење за да се постигне добар акушерски исход. Од друга страна,

неколку акушерски нарушувања особено повторливи загуби на бременост, рани и тешки прееклампсии и синдром на рекурентен неуспех на имплантација може да се должи на зголемување на цитокините зависни од Th1 особено TNF- α ⁵⁷.

2. ДИЗАЈН НА СТУДИЈАТА

По својот дизајн студијата е проспективна, опсервациска и лонгитудинална. Во неа беа вклучени 150 пациентки со единечна бременост кај кои секако беше потребна медицински индицирана амниоцентеза во второто тримесечје (16 г.н. – 22 г.н.). Оваа студија се изведуваше на Клиниката за гинекологија и акушерство, Институтот за имунологија и хумана генетика и Институтот за микробиологија со паразитологија – Скопје, Р. Северна Македонија во текот на две години односно во периодот од 1.2.2017 година до 1.9.2019 година.

Секој пациент даде писмена согласност за учество во студијата.

На трудниците им беше објаснета целта на оваа студија, за можната корист која би произлегла од неа, како и можноста во секој момент да се повлечат од истражувањето.

За ова истражување беше добиена согласност од етичката комисија при Медицинскиот факултет во Скопје.

3. ПРЕДМЕТ, МОТИВ И ЦЕЛИ

3.1 Предмет

Предмет на ова истражување е предвидување на предвременото породување кај асимптоматски пациентки врз основа на инфламаторни медијатори во амнионската течност.

3.2 Мотив

Мотив за изработка на оваа студија претставува потребата од подобро разбирање на предвременото породување како и сите ризици кои тоа ги носи со себе вклучувајќи го и мајчиниот и феталниот морталитет и морбидитет.

Станува збор за честа патологија која не е до крај испитана.

Огромен е и финансискиот товар на болницата, првично, околу стручниот кадар, апаратурата која е потребна за лекување и одржување во живот на овие новороденчиња, а потоа и за чинењето на терапијата која треба да се администрира.

3.3 Цели на студијата

3.3.1 Примарни цели на студијата

- Да ги предвидиме предвремените породувања уште во време кога не се симптоматски за да можеме да преземеме соодветен третман и да го спречиме тоа.

3.3.2 Секундарни цели на студијата

- Да се подобри предвидувањето на предвремените породувања во Р. Северна Македонија кај пациентките кои сеуште не се симптоматски;

- Да се одредат ризик факторите во нашата популација кои најчесто се причина за настанување на предвременото породување при што би можеле понатаму да ги споредиме со претходно дефинираните ризик фактори;
- Да се одредат инфламаторните медијатори во амнионската течност и да се дефинира нивното влијание врз исходот на бременоста;
- Да се испитаат комбинациите помеѓу инфламаторните медијатори во амнионската течност, должината на грлото на матката, вагиналната и цервикалната микробиолошка состојба во второто тримесечје и нивното влијание врз предвременото породување;
- Да се изработи алгоритам по кој пациентките во иднина би биле третирани со соодветен третман за да може да се намали стапката на предвременото породување .

3.4 Хипотеза

Оние пациентки кај кои ќе бидат покачени инфламаторните маркери во амнионската течност во второто тримесечје, ќе имаат зголемен ризик да се породат предвремено.

4. ПАЦИЕНТИ И МЕТОДИ

4.1 Пациенти

Во студијата беа вклучени 150 пациентки со еднинечна бременост кај кои секако беше потребна медицински индицирана генетска амниоцентеза во второто тримесечје (16 г.н. – 22 г.н.) односно кај напредната мајчина возраст >35 години, висок комбиниран ризик на тестот PRISCA I и PRISCA II, суспектни аномалии на плодот при ултразвучен преглед, постоење повеќе од два софт маркери на ултразвучен скрининг во второто тримесечје, фамилијарна анамнеза за генетски нарушувања, историја на претходни породувања со дијагноза на генетски нарушувања, позитивен NIPT тест и др. Оваа студија се изведуваше на Клиниката за гинекологија и акушерство во Скопје.

Сите пациентки потпишаа информативна согласност за учество во студијата, а на кои претходно детално им се објасни значењето на учество во неа.

4.1.1 Инклузиски критериуми

Инклузиски критериуми за влез во студијата се :

1. Еднинечна бременост;
2. Пациентки каде секако е потребна медицински индицирана генетска амниоцентеза во раното второ тримесечје;
3. Бременост од 16 до 22 гестациска недела;
4. Пациентки кои немаат знаци за спонтан абортус во моментот на правење на амниоцентезата.

4.1.2 Ексклузиски критериуми

1. Нејасна гестациска возраст;
2. Повеќеплодова бременост;
3. Позитивен тест на амниоцентеза- абнормален кариотип;

4. Пациентки со кои понатаму нема да може да се стапи во контакт и кај кои нема да има информација за исходот на бременоста;
5. Пациентки кај кои бременоста е предвремено завршена поради индукција од други причини.

4.2 Методи

По потпишување на информираната согласност, трудниците беа комплетно евалуирани по планот на студијата во рамки на стандардните испитувања во бременоста.

4.2.1 Анамнеза и физикален преглед

Кај сите пациентки беше земена детална анамнеза за нивната здравствена состојба и постоењето дополнителни состојби и заболувања кои би имале влијание врз исходот во бременоста, како што се: бременост настаната со ИВФ и ЕТ, пушење, преегзистенцијална артериска хипертензија, дијабетес мелитус, астма и др. Исто така, се земаа податоци и за претходните бремености кои имаат значење за исходот на оваа бременост, како што се: претходни предвремени породувања, болести во претходните бремености, начинот на завршување на претходните бремености, бројот на претходни абортуси. Од исклучителна важност беше добивање на нивниот контакт телефон, адреса на живеење и матичен гинеколог при што би можеле да го следиме текот на бременоста, нејзините компликации, а најважно гестациската недела на породување, начинот на породување и исходот од бременоста.

Кај сите пациентки беше направен и детален физикален преглед со мерење, телесна тежина и висина. Мерење телесна тежина (кг) и висина (см) се направи кај пациентките со цел одредување на индексот на телесна маса (body mass index, BMI, kg/m^2). Одредувањето на индексот на телесна маса се одредуваше по следнава формула: $\text{ИТМ} = \text{тежина (кг)} / \text{висина}^2 (\text{m}^2)$, прекумерна тежина е ако $\text{ИТМ} > 25 \text{ kg/m}^2$. Дебелината е дефинирана како $\text{ИТМ} > 30 \text{ kg/m}^2$.

4.2.2 Следење на пациентките

1. Прва контрола при влез во студијата помеѓу 16 г.н. -22 г.н.:

- примарна обработка на трудниците кои беа детално запознаени со целта на студијата и доброволно потпишаа согласност за учество,
- фетален ултразвук,
- цервикометрија,
- амниоцентеза,
- цервикален и вагинален микробиолошки примерок.

2. Втора контрола по породување:

- начин на породување,
- гестациска недела,
- APGAR скор,
- перинатален исход за мајка,
- РТМ,
- присуство или отсуство на коморбидитети.

4.2.3 Фетална ултрасонографија

Стандарден акушерски абдоминален ултразвучен преглед кој вклучува: одредување фетална биометрија, точно одредување на гестациската возраст, поставеност и изглед на постелката, количина на околуплодовата вода. Прегледот се изведуваше при влез на трудниците во студијата со абдоминална конвексна 3,5 MHz сонда на апарат GE -Voluson 730 pro (слика 4.1) на Клиниката за гинекологија и акушерство од страна на докторандот во амбулантата за амниоцентези.

При влез во студија, (прва контрола) утврдување на:

- презентација на плод,
- основна фетална биометрија,
- позиција и структура на постелката, како и количество на околуплодовата вода,
- точно одредување на гестациската недела,

- мерење на должината на грлото на матката,
- медицинска индикација за изведување амниоцентеза.



Слика 4.1. Ултразвучен апарат Voluson 730 pro

4.2.4 Цервикометрија – мерење на должина на грлото на матката

Стандардна цервикометрија со која се мери должината на грлото на матката односно цервиксот кај трудници. Сама метода се изведуваше во амбулантата за амниоцентези, со трансвагинална сонда 6,5 MHz на апарат GE -Voluson 730 pro (слика 4.1) на Клиниката за гинекологија и акушерство од страна на докторандот.

4.2.5. Цервикални и вагинални микробиолошки примероци

Цервикални и вагинални микробиолошки примероци беа земени од 87 пациентки додека останатите 63 имаа во прилог документ од нив не постар од еден месец, кој беше додаден во нивната документација.

Цервикалните и вагиналните примероци беа земени на гинеколошки стол во амбулантата за амниоцентези. Кај секоја пациентка следеше инсерција на стерилен пластичен спекулум за една употреба при што се зема еден вагинален примерок и три примероци од грлото на матката со специјално стапче за земање микробиолошки примероци за микробиолошка обработка (слика 4.2).



Слика 4.2 – стапче за земање вагинални и цервикални примероци

Земање мостри:

- Со стапче за земање биолошки примерок кој претходно е означен со име и презиме на пациентката се зема вагинален примерок од задниот форникс на вагината додека за цервикален примерок се зема од ендцервикалниот канал по отстранувањето слуз од површината на грлото на матката со тупфер. Врвот на стапчето се вовлекува неколку милиметри во цервикалниот канал при што се ротира за да се добијат цервикалните клетки и ексудат, по што внимателно се вади внимавајќи да не ги допира ѕидовите на вагината.

Прв примерок – за култивирање аеробни и анаеробни бактерии и габи во вагината;

Втор примерок – за култивирање аеробни и анаеробни бактерии и габи во цервикалниот канал;

Трет примерок - за култивирање *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum*;

Четврт примерок – за докажување присуство на *Chlamydia trachomatis*.

Потоа, четирите примероци беа транспортирани за не подолго од два часа на Институтот за микробиологија со паразитологија каде што беа обработени.

Обработка на примероците: Од добиените вагинални и цервикални примероци најнапред беа правени директни микроскопски препарати кои беа обојувани според Грам. Вака подготвените препарати овозможуваа во цервикалните примероци да се процени присуството на: патогени и/или условно патогени бактерии, бластоспори на *Candida* и леукоцити, додека во вагиналните брисеви покрај набројаните елементи беше проценувано и присуство на нормална флора. Цервикалните примероци, потоа беа засадувани на неколку подлоги: крвен агар за изолација на патогени и/или условно патогени бактерии за гениталниот тракт, Таер-Мартинов агар за изолација на *Neisseria gonorrhoeae*, селективна подлога за истовремена изолација на *Gardnerella vaginalis* и други анаеробни бактерии, подлога за детекција на растот на *Mycoplasma hominis/Ureaplasma urealyticum* како и Сабуро агар за изолација на *Candida spp.* и за диференцијација на *Candida albicans*. Сите наведени подлоги (освен подлогата за *Neisseria gonorrhoeae*) беа употребени и за обработка на вагиналните брисеви. По инкубација од 24 и 48 часа, од пораснатите колонии беше изведувана биохемиска идентификација на добиените изолати според стандардни микробиолошки процедури⁵⁸.

Цервикалните брисеви за детекција на *Chlamydia trachomatis* беа обработувани со директна имунофлуоресцентна техника. За таа цел беа подготвувани микроскопски препарати кои беа обојувани со флуорохроми по изведување антиген-антитело реакцијата. На предметно стакло беа нанесени маркирани антитела со флуорохроми против *Chlamydia trachomatis* кои имаа способност за врзување со нејзините специфични антигени присутни во испитуваните примероци⁵⁸.

4.2.6. Амниоцентеза

По точно одредена индикација за потребата од амниоцентеза (напредната мајчина возраст >35 години, висок комбиниран ризик на тестот PRISCA I и PRISCA II, суспекти аномалии на плодот при ултразвучен преглед, постоење повеќе од два софт маркери на ултразвучен скрининг во второто тримесечје, фамилијарна анамнеза за генестки нарушувања, историја на претходни породувања со дијагноза на генестки нарушувања, позитивен NIPT тест и др), кај пациентката во амбулантата за амниоцентези, се отвораше документ за прием на Клиниката за гинекологија и акушерство на Одделот за интервентно ехо во склоп на Одделот за високоризична бременост.

Самата амниоцентеза се одвиваше во строго одредени услови и протокол заради безбедност на пациентката за изведба на оваа инвазивна метода. Таа се одвиваше под контрола на абдоминална конвексна 3,5 MHz сонда на апарат GE -Voluson 730 pro (слика 4.1).

Пациентката е во лежечка положба на грб со рацете поставени позади глава. Најпрвин се прави дезинфекција на површината на стомакот каде што се изведува самата процедура. Изведувачот става стерилни ракавици, а потоа и ја заштитува сондата на ултразвукот со стерилна кеса. Се одредува позицијата на боцкање, а потоа со стерилна спинална игла со дебелина од 20 G се поминува преку абдоменот на пациентката па низ утерусот се влегува во амнионската кеса односно во околуплодовата вода. Сето ова, во текот на изведување на процедурата се следи на ултразвучниот апарат. Се зема 10-20 мл. околуплодова вода во зависност од потребите и индикацијата за самата амниоцентеза со 20 кубичен стерилен шприц, а веднаш потоа за потребите на студијата во 10 кубичен шприц претходно означен за самата пациентка се земаат дополнителни 5 мл. амнионска течност. Веднаш потоа се вади иглата. На пациентката и се советува мирување тој ден и доколку таа се е во ред се испишува од Клиниката за гинекологија и акушерство (слика 4.3).



Слика 4.3 Спроведување на амниоцентеза

Амнионска течност

За потребите на студијата амнионската течност се делеше на три дела:

1. Амнионска течност од 1 мл. веднаш се обработуваше во биохемиската лабораторија на Клиниката за гинекологија и акушерство каде по стандардни техники се направи мерење на леукоцити со хематолошки бројач: Medonic M20 Blood Cell Counter, Boule Medical AB, Sweden и анализа на вредностите на глукоза со биохемиски анализатор: Abbot Architect c4000, clinical chemistry analyzer, USA (слика 4.4).



Слика 4.4 Abbot Architect c4000, clinical chemistry analyzer

2. Амнионската течност од 2 мл. се транспортираше (во рок од 2 часа), во лабораторијата на Институтот за имунологија и хумана генетика при Медицинскиот факултет во Скопје каде што по прием се центрифугираше со вртежи од 1500 g. во рок од 10 мин., а потоа се замрзнуваа на температура од – 20 °C се до нивна обработка односно до собирање на сите потребни 150 примероци за изведба на целата студија.

По колекцијата на сите 150 пациентки од примероците на амнионска течност се направија мерења на: IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8 со Luminex технологија- микросфери претходно обележани со одредена боја, а на површината со фиксирани антитела специфични за одредуваниот цитокин. Тоа овозможуваше паралелно да бидат анализирани повеќе цитокини во истиот примерок. По создавањето антиген-антитело комплекси, за детектирање се додаваа биотинилирани антитела специфични за цитокиноот од интерес. Концентрациите на цитокините се пресметуваа по комбинирано читање со двоен ласерски систем Luminex 200 TM, при што еден ласер го детектирале испитуваниот цитокин, а другиот ја одредувале големината на сигналот кој беше директно пропорционален на количината на врзани цитокини. Сите стандарди и препораки беа запазени согласно со инструкциите дадени од производителот Immuno- Biological Laboratories (IBL) Hamburg, Germany. (Слика 4.5.)

3. По 2 мл. амнионска течност од секоја испитаничка беа доставувани на Институтот за микробиологија и паразитологија при Медицинскиот факултет во Скопје, за микробиолошка обработка. Со цел да се идентификува каква било бактерија или габичка во амнионската течност како примарно стерилен примерок, најнапред беше подготвуван директен микроскопски препарат кој беше обојуван според Грам. Веднаш потоа од добиените примероци беше правена амниокултура т.е. примероците беа засадувани и инкубирани на крвен агар и Сабуро агар (за изолација на патогени бактерии и габички, соодветно) како и на подлога за детекција на *Mycoplasma hominis/Ureaplasma urealyticum*. Добиените изолати беа идентификувани со стандардни биохемиски тестови⁵⁸.



Слика 4.5 Luminex 200

4.3 Параметри за анализа

1. Демографски податоци:

- Возраст;
- ИТМ;
- Претходни бремености;
- Претходни предвремени породувања;
- Коморбидитети;
- Начин на завршување на претходните бремености;
- Појава на болести во текот на бременоста;
- Примање терапија.

2. УЗ евалуација на фетус:

- Презентација;
- Срцева акција;
- Околуплодова вода;

- Постелка;
- Основни мерки (BPD,HC,AC,FL);
- Индикација за амниоцентеза;
- Процена на гестациска возраст.

3. Амнионска течност:

- Леукоцити;
- Глукоза;
- IL-1 β ;
- IL-8;
- TNF- α ;
- IL-6;
- Боење по Gram +/-;
- Наод од амниокултура;
- Присуство на *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum*.

4. Наоди од микробиолошките испитувања на вагиналните и цервикалните примероци.

5. Начин на завршување на бременоста:

- ПМС во термин;
- ППС пред термин;
- S.C. во термин;
- S.C. пред термин.

6. Родилни телесни мерки и APGAR скор.

5. СТАТИСТИЧКА ОБРАБОТКА НА ПОДАТОЦИ

Статистичката обработка и анализата на податоците беше направена во статистичкиот програм SPSS for Windows 23,0.

За тестирање на нормалноста во дистрибуцијата на податоците беше користен Kolmogorov-Smirnov тестот.

Квантитативните белези се прикажани со просечни и средни вредности (mean \pm SD, median), а квалитативните белези се прикажани со апсолутни и релативни броеви.

Биваријантна анализа е направена за споредување на групите предвремено и термински породени. Pearson Chi-square тест и Fisher exact тест беа користени за компарирање на овие групи во однос на квалитативните белези, Student t-тест и Mann-Whitney тест беа користени за компарирање на овие групи во однос на квантитативните белези.

Непараметриска корелација (Spearman Rank correlation) беше употребена за анализирање на корелацијата на должината на грлото на матката со инфламаторните маркери.

Биваријантна логистичка регресиска анализа со пресметување релативен ризик и 95% интервал на доверба беше спроведена за да се утврди придонесот на возраста, индексот на телесна маса, должината на грлото на матката, како и вредноста на TNF – α , IL-6, IL-8, IL-1 β и глукоза на исходот на бременоста со предвремено породување.

ROC анализа се употреби за да се одреди дискриминаторската способност на инфламаторните маркери, пациентките породени предвреме од тие породени во термин. За сите овие тестови беше конструирана ROC крива, која претставува графички приказ на сензитивноста и специфичноста за секој можен граничен скор (резултат на тестот) во координатен систем, во кој на ординатата (y оската) прикажани се вредностите на сензитивноста, а на апсцисата (x оската), вредностите на специфичноста одземени од 1.

Мерка на дијагностичка точност во ROC анализата е површината под ROC кривата (AUC). Таа секогаш е ≥ 0.5 . Нејзините вредности се наоѓаат

помеѓу 1.0 (комплетно раздвојување на вредностите на одредување на двете групи) и 0.5 (без дистрибуциска разлика меѓу вредностите на одредување на двете групи). AUC се прикажува со нејзината стандардна грешка и 95% интервал на доверба.

$AUC \leq 0.50$ тестот не е корисен,

$0.50 < AUC < 0.60$ тестот е слаб дискриминатор,

$0.60 < AUC < 0.70$ тестот е доволно дискриминаторен,

$0.70 < AUC < 0.80$ тестот е добар дискриминатор,

$0.80 < AUC < 0.90$ тестот е многу добар дискриминатор,

$0.90 < AUC < 1.0$ тестот е одличен дискриминатор.

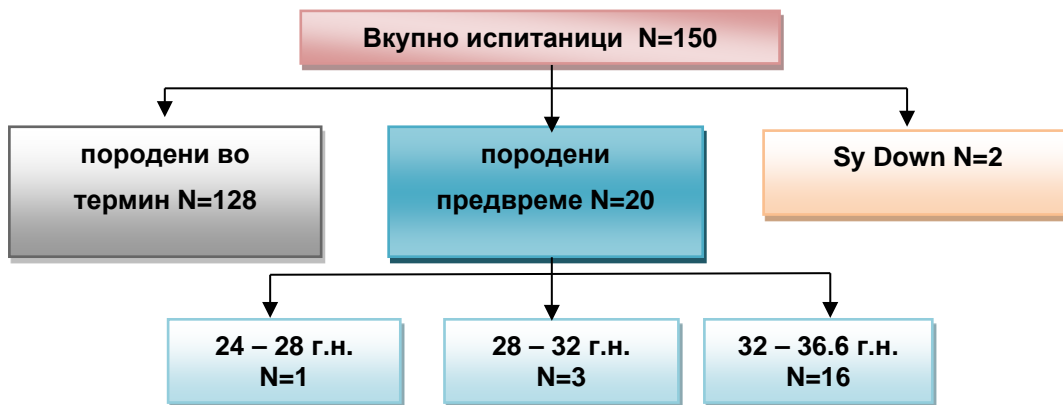
Податоците од интерес се прикажани табеларно и графички.

За статистички сигнификантни беа земени вредностите на $p < 0.05$, а за високо статистички сигнификантни вредностите на $p < 0.01$.

6. РЕЗУЛТАТИ

Во овој дел од истражувањето прикажани се резултатите добиени со обработка и анализа на 150 испитанички, пациентки од Универзитетската клиника за гинекологија и акушерство – Скопје, Р. Северна Македонија со еднинечна бременост и со медицински индицирана генетска амниоцентеза во раното второ тримесечје (16 г.н. – 22 г.н.).

Во оваа група пациентки, кај 13.3% (20) настапи предвремено породување. Кај две пациентки по наод за генетски нарушувања (Sy.Down), добиен на амниоцентезата бременоста беше прекината.(слика 6.1).



Слика 6.1 Број на термински и предвремено породени пациентки

6.1 Резултати од споредбата на групите испитанички породени во термин и предвремено породени

Во просек, неделата во која е завршено породувањето беше 41.9 ± 3.2 недели во групата породени во термин и 34.0 ± 2.7 недели во групата предвремено породени, средната недела на породување беше 39.15 и 35.15 недели консеквентно (табела 6.1).

Табела 6.1. Недела на завршено раѓање кај пациентките породени предвреме и во термин

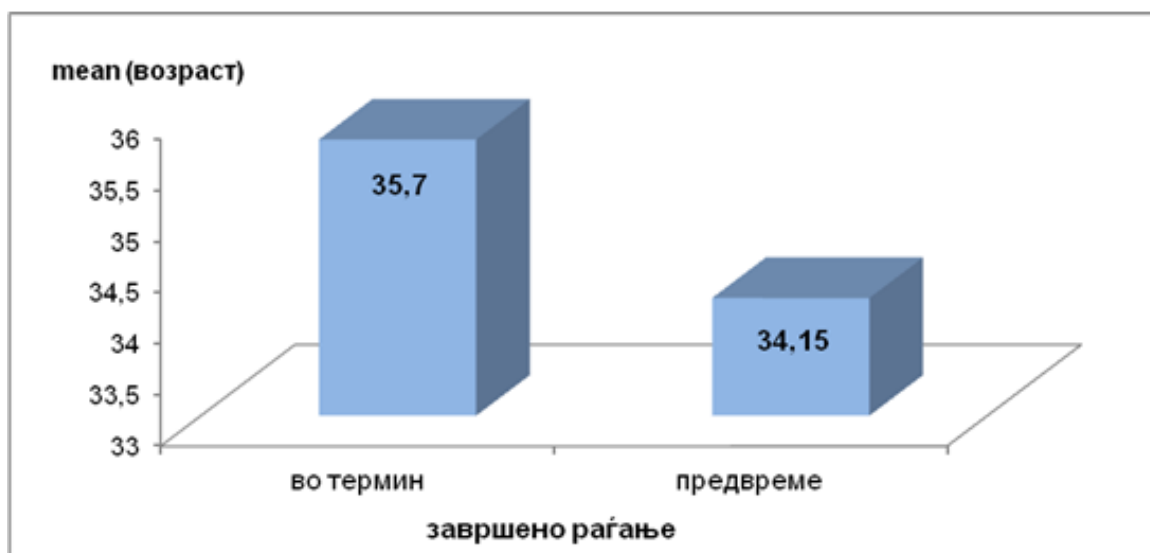
завршено раѓање	Descriptive Statistics (г.н. во кое е завршено раѓањето)		
	n	mean \pm SD	median (IQR)
во термин	128	41.9 ± 3.2	39.15(38.1 – 40)
предвреме	20	34.0 ± 2.7	35.15(33.1 – 6.05)

Групите со предвремено и терминско породување беа хомогени во однос на возраста односно пациентките од двете групи не се разликуваа во однос на возраста ($p=0.21$). Пациентките породени пред 37-ма г.н. беа на возраст од 24 до 42 години, со просечна возраст од 34.15 ± 4.1 , пациентките породени по 37 г.н. беа на возраст од 19 до 42 години, со просечна возраст од 35.7 ± 5.1 (табела 6.2, слика 6.2).

Табела 6.2. *Возраст на пациентки породени предвреме и во термин*

завршено раѓање	Descriptive Statistics (возраст)			p-level
	N	mean \pm SD	min-max	
во термин	128	35.7 ± 5.1	19 – 45	$t=1,26$
предвреме	20	34.15 ± 4.1	24 – 42	$p=0.21$ ns

Student t-tests



Слика 6.2. *Графички приказ на просечна возраст - пациентки породени предвреме и во термин*

Пациентките предвремено породени и породени во термин не се разликуваа сигнификантно во однос на степенот на образование ($p=0.41$). Со оформено средно образование беа половина пациентки од двете групи, високо образование имаа завршено 50% (10) предвремено и 42.2% (54) термински породени испитанички. Во групата породени по 37 г.н. имаше 7.8% (10) пациентки со основно образование (табела 6.3).

Табела 6.3. Образование на пациентки породени предвреме и во термин

Образование	завршено раѓање			p-level
	N	во термин n(%)	предвреме n(%)	
Основно	10	10 (7.81)	0	X ² =1.81 p=0.41 ns
Средно	74	64 (50)	10 (50)	
Високо	64	54 (42.19)	10 (50)	

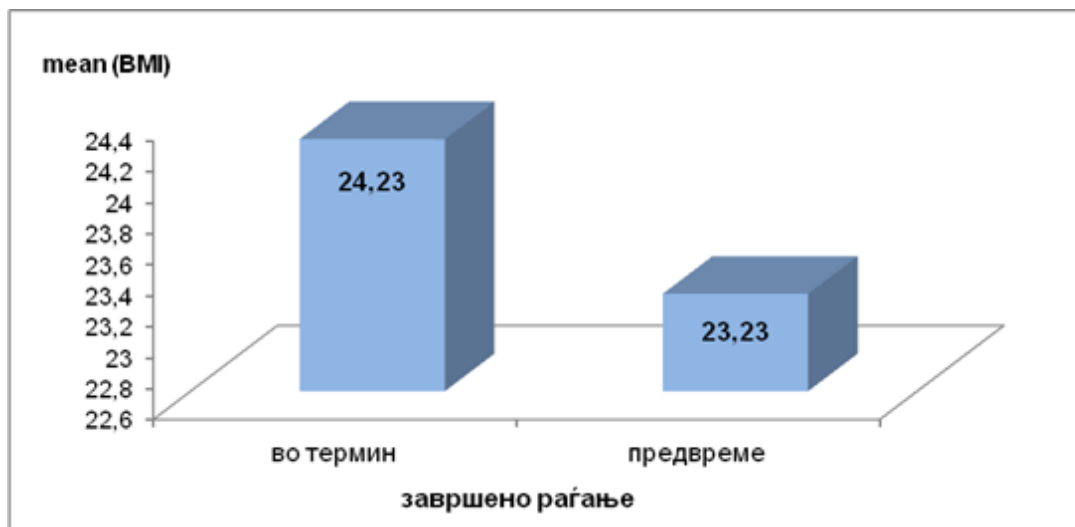
X² (Pearson Chi-square)

Индексот на телесна маса (ИТМ) имаше просечна вредност од 23.23 ± 3.0 во групата породени пред 37 г.н., а 24.23 ± 2.8 во групата породени по овој термин. Статистички несигнификантна беше разликата меѓу двете групи во однос на просечниот ИТМ (p=0.15). (табела 6.4, слика 6.3).

Табела 6.4. Индекс на телесна маса - пациентки породени предвреме и во термин

завршено раѓање	Descriptive Statistics (BMI)			p-level
	n	mean ± SD	min-max	
во термин	128	24.23 ± 2.8	16.41 – 31.25	t=1.45 p=0.15 ns
предвреме	20	23.23 ± 3.0	19.96 – 32.03	

Student t-tests



Слика 6.3. Графички приказ на просечен ИТМ - пациентки породени предвреме и во термин

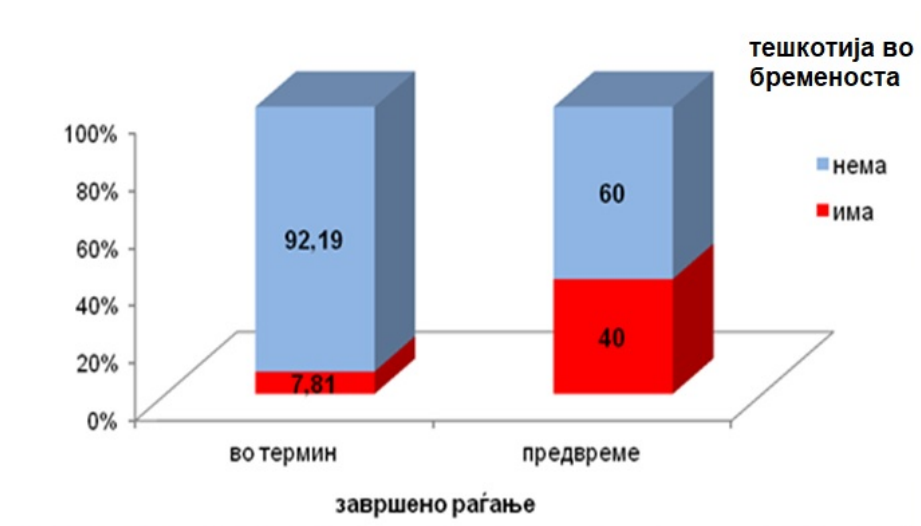
Тешкотија во оваа бременост почесто имале пациентките кои се породени пред 37-ма г.н. Резултатите прикажани во табела покажуваат дека кај 40% (8) пациентки предвремено породени се јавиле одредени проблеми во

бременоста наспроти 7.8% (10) пациентки породени во термин. Почестата појава на тешкотија во бременоста кај предвреме породените пациентки и статистички се потврди како сигнификантна односно значајна ($p < 0.0001$), (табела 6.5, слика 6.4).

Табела 6.5. Зачестеност на тешкотија во бременоста - пациентки породени предвреме и во термин

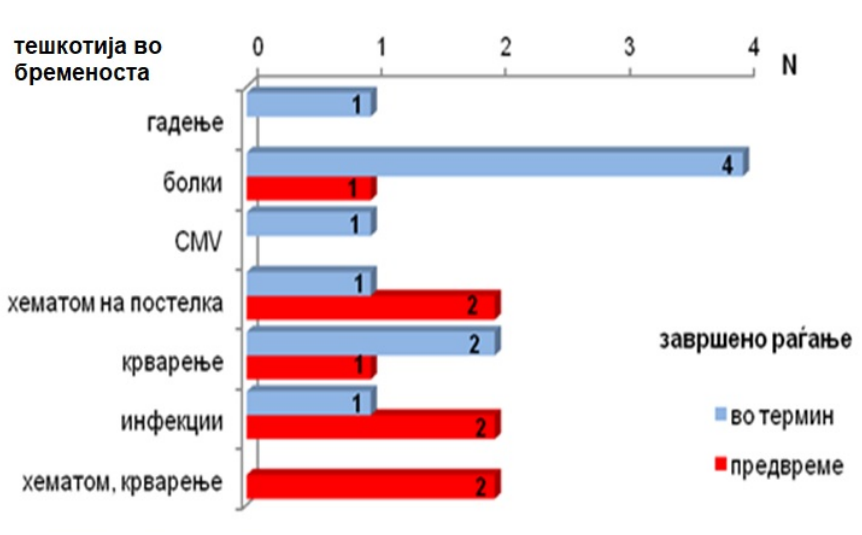
Тешкотија во оваа бременост	завршено раѓање			p-level
	N	во термин n(%)	предвреме n(%)	
Има	18	10 (7.81)	8 (40)	$\chi^2=16.8$ $p=0.0000$ sig
Нема	130	118 (92.19)	12 (60)	

χ^2 (Pearson Chi-square)



Слика 6.4. Графички приказ на зачестеност на тешкотија во бременоста - пациентки породени предвреме и во термин

Видот на тешкотија кои се јавиле кај испитаничките во тек на бременоста ги презентира слика 6.5 .



Слика 6.5. Графички приказ на вид тешкотија во бременоста - пациентки породени предвреме и во термин

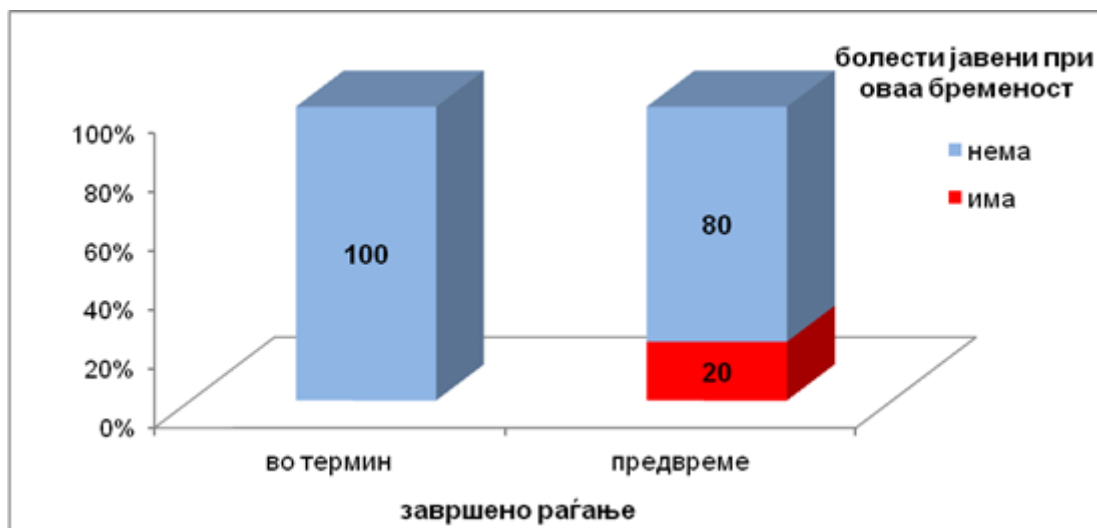
Во текот на бременоста кај 4 пациентки предвреме породени се јавиле заболувања, (кај 3 дијабетес мелитус, кај една пациентка висок притисок). Во групата пациентки породени во термин не беа дијагностицирани заболувања во бременоста.

Со статистичка сигнификантност од $p < 0.0001$ беше потврдена разликата во дистрибуцијата на пациентки со и без болести појавени во текот на бременоста, а во зависност од гестациската недела во која настапило породувањето (табела 6.6, слика 6.6).

Табела 6.6. Болести кои се јавиле во оваа бременост - пациентки породени предвреме и во термин

болести јавени при оваа бременост	N	завршено раѓање		p-level
		во термин n(%)	предвреме n(%)	
Има	4	0	4 (20)	$\chi^2=19.3$ $p=0.0000$ sig
Нема	144	128 (100)	16 (80)	
DM	3		3	
притисок	1		1	

χ^2 (Pearson Chi-square)



Слика 6.6. Графички приказ на зачестеност на болести кои се јавиле во бременоста - пациентки породени предвреме и во термин

Од 10% (2) предвреме породени, а од 7.8% (10) пациентки породени во термин беше добиен податок дека во текот на бременоста примале одредена терапија. Не беше потврдена статистичка сигнификантна разлика меѓу двете групи во однос на зачестеноста на примање лекови во бременоста ($p=0.91$) (табела 6.7).

Табела 6.7. Зачестеност на примање лекови во бременоста - пациентки породени предвреме и во термин

Терапија во текот на бременоста	завршено раѓање			p-level
	N	во термин n(%)	предвреме n(%)	
да	12	10 (7.81)	2 (10)	$X^2=0.0115$
не	136	118 (92.19)	18 (90)	$p=0.91$ ns

X^2 (Pearson Chi-square)

Кај 9 пациентки бременоста настанала како резултат на ИВФ и ЕТ. Во групата породени пред 37-ма г.н. 15% (3) испитанички забремениле на овој начин, а во групата породени по 37-ма гестациска недела 4.7% (6) испитанички. Статистичката анализа не потврди сигнификантна разлика во начинот на забременување кај пациентките предвреме и термински породени ($p=0.19$) (табела 6.8).

Табела 6.8. Начин на забременување - пациентки породени предвреме и во термин

Начин на концепција	n	завршено раѓање		p-level
		во термин n(%)	предвреме n(%)	
Нормално	139	122 (95.31)	17 (85)	$\chi^2=1.67$
ИВФ и ЕТ	9	6 (4.69)	3 (15)	p=0.19 ns

χ^2 (Pearson Chi-square)

Согласно резултатите од табела 6.9, двете групи беа слични во однос на претходните бремености и без статистичка сигнификантност ($p=0.49$). Претходни бремености имале 70% (14) пациентки предвреме породени и 79.7% (102) пациентки породени во термин. (табела 6.10).

Табела 6.9. Зачестеност на претходни бремености - пациентки породени предвреме и во термин

Претходни бремености	N	завршено раѓање		p-level
		во термин n(%)	предвреме n(%)	
нема	32	26 (20.31)	6 (30)	$\chi^2=0.47$
има	116	102 (79.69)	14 (70)	p=0.49 ns

χ^2 (Pearson Chi-square)

Пациентките породени пред термин поретко од тие породени во термин имале термински породувања во претходните бремености. Во групата породени пред 37-ма г.н. нема пациентки со 4 и 5 претходни термински породувања, наспроти шест и една пациентка консеквентно во групата породени по 37 г.н.

Статистичката анализа не потврди сигнификантна разлика во бројот на претходни термински породувања меѓу двете групи испитанички ($p=0.57$).

Табела 6.10. Број на термински породувања - пациентки породени предвреме и во термин

Бр. на термински породувања	N	завршено раѓање		p-level
		во термин n(%)	предвреме n(%)	
1	51	47 (46.53)	4 (28.57)	Z=-0.56
2	46	37 (36.63)	9 (64.29)	p=0.57 ns
3	11	10 (9.9)	1 (7.14)	
4	6	6 (5.94)	0	
5	1	1 (0.99)	0	

Z (Mann-Whitney)

Спонтани абортуси имале 60% (12) пациентки предвреме породени наспроти 47.6% (61) породени во термин. Тестираната разлика во дистрибуција на испитанички со и без историја на спонтани абортуси, а во зависност од гестациската недела на породување не се потврди статистички како сигнификантна односно значајна ($p=0.3$) (табела 6.11).

Табела 6.11. Број на спонтани абортуси - пациентки породени предвреме и во термин

Бр. на спонтани абортуси	N	завршено раѓање		p-level
		во термин n(%)	предвреме n(%)	
0	75	67 (52.34)	8 (40)	$\chi^2=1.05$
1	62	52 (40.63)	10 (50)	$p=0.3$ ns
2	11	9 (7.03)	2 (10)	

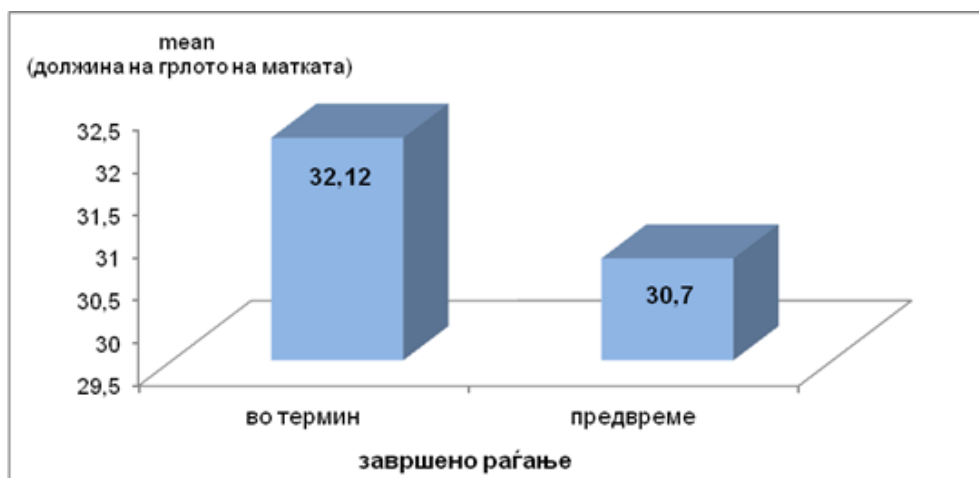
χ^2 (Pearson Chi-square) немале вс имале

Грлото на матката имаше несигнификантно пократка просечна должина кај пациентките предвреме породени наспроти тие породени во термин (30.7 ± 2.7 vs 32.12 ± 3.8 ; $p=0.11$). (Табела 6.12, Слика 6.7).

Табела 6.12. Должина на грло на матка - пациентки породени предвреме и во термин

завршено раѓање	Descriptive Statistics (должина на грлото на матката)			p-level
	n	mean \pm SD	min-max	
во термин	128	32.12 ± 3.8	22 – 40	$t=1.6$
предвреме	20	30.7 ± 2.7	27 – 39	$p=0.11$ ns

Student t-tests



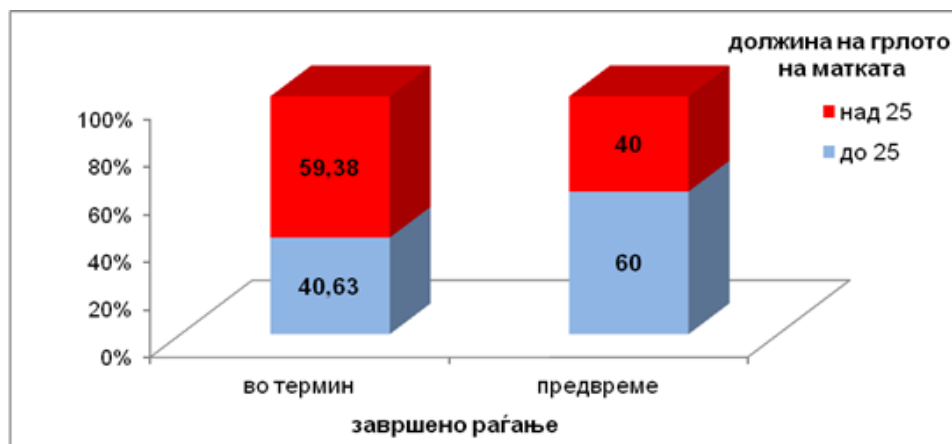
Слика 6.7. Графички приказ на просечна должина на грло на матка - пациентки породени предвреме и во термин

Должина на грлото на матка пократка од 25мм беше измерена почесто кај пациентките породени пред 37-ма гестациска недела – 60% (12) наспроти 40.6% (52). Но, разликата меѓу двете групи во однос на должината на грлото на матката анализирана до и подолга од 25мм не беше доволна за статистичка сигнификантност ($p=0.1$) (табела 6.13, слика 6.8).

Табела 6.13. Должина на грло на матка под и над 25 мм- пациентки породени предвреме и во термин

должина на грлото на матката	N	завршено раѓање		p-level
		во термин n(%)	Предвреме n(%)	
до 25	64	52 (40.63)	12 (60)	$\chi^2=2.64$ $p=0.1$ ns
над 25	84	76 (59.38)	8 (40)	

χ^2 (Pearson Chi-square)



Слика 6.8. Графички приказ на должина на грло на матка под и над 25 мм- пациентки породени предвреме и во термин

Од сите испитанички беа земени вагинални и цервикални примероци за микробиолошка анализа. Позитивни, односно со наод несигнификантно почесто беа примероците земени од пациентките породени предвреме – 50% (10) наспроти пациентките кои беа породени во термин- 35.95% (46), $p=0.23$ (табела 6.14).

Табела 6.14. Цервикални и вагинални примероци од пациентки породени предвреме и во термин

цервикални и вагинални примероци	N	завршено раѓање		p-level
		во термин n(%)	Предвреме n(%)	
уредни	92	82 (64.06)	10 (50)	$\chi^2=1.45$ $p=0.23$ ns
со наод	56	46 (35.94)	10 (50)	

χ^2 (Pearson Chi-square)

Вагинални и цервикални примероци беа земени од 95% (19) пациентки од групата предвреме породени и од 97.7% (125) од групата породени во термин. Позитивни наоди од вагиналните и цервикалните примероци беа добиени кај 78.95% (15) земени од пациентки предвреме породени и кај 16.8% (21) од термински породени пациентки односно почесто позитивен наод во прилог на инфекција беше дијагностициран кај пациентки породени пред 37-ма г.н., што се потврди и статистички како сигнификантно (Chi-square=15.2 p=0.0001).

Во однос на изолираните патогени, резултатите прикажани во табела покажаа присуство на *Gardnerella vaginalis* во 21% (4) позитивни примероци од пациентки предвреме породени и 3.2% (4) позитивни примероци од пациентки термински породени; *Ureaplasma urealyticum* беше изолирана во 10.5% (2) позитивни примероци од пациентки предвреме породени и 4% (5) позитивни примероци од пациентки термински породени. И во двете групи најчесто беше изолирана *Candida albicans*, значајно почесто кај пациентките породени пред 37-ма г.н.– 47.4% (9) и 9.6% (12) пациентки консеквентно (табела 6.15).

Табела 6.15. Наоди од цервикални и вагинални примероци кај пациентки породени предвреме и во термин

	завршено раѓање		
	N	во термин n(%)	предвреме n(%)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	8	4 (3.2)	4(21.05)
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	7	5 (4.0)	2 (10.53)
<i>Candida albicans</i>	21	12 (9.6)	9 (47.37)

Резултатите од истражувањето покажаа сигнификантно различен број леукоцити во амнионската течност (p=0.02). Наод на леукоцити во амнионска течност имаа 57.9% (11) пациентки породени пред 37-ма г.н., и кај 31.25% (128) пациентки поордени по 37 г.н. Значајно поголем број леукоцити беа изброени во амнионската течност кај пациентките предвреме породени односно кај повеќе од половина пациентки од оваа група беа најдени повеќе од $5 \times 10^9/l$ леукоцити, наспроти $2 \times 10^9/l$ кај пациентките термински породени. (табела 6.16).

Табела 6.16. Леукоцити во амнионска течност - пациентки породени предвреме и во термин

завршено раѓање	Descriptive Statistics (леукоцити)		p-level
	n	median (IQR)	
во термин	40	2 (1 – 5) x10 ⁹ /l	0.02 sig
предвреме	11	5 (3 – 9) 2x10 ⁹ /l	

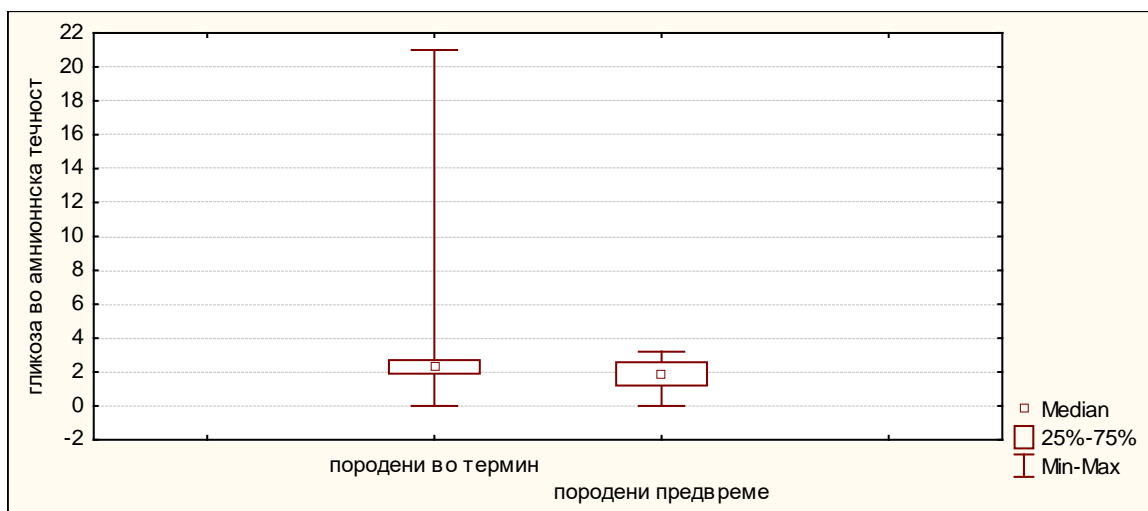
p(Mann-Whitney test)

Во амнионската течност беа измерени сигнификантно различни вредности на глукоза, а во зависност од гестациската недела на породување (p=0.038). Кај пациентките породени предвреме овие вредности беа значајно пониски. Средната концентрација на глукоза во амнионската течност во групата предвреме породени беше 1.9 ммол/Л, а 2.3 ммол/Л во групата термински породени (табела 6.17, слика 6.9).

Табела 6.17. Вредности на глукоза во амнионска течност - пациентки породени предвреме и во термин(ммол/Л)

завршено раѓање	Descriptive Statistics (глукоза)				p-level
	n	mean ± SD	min - max	median (IQR)	
во термин	128	2.27 ± 0.7	0 – 5	2.3 (1.9 – 2.7)	Z=1.9 p=0.038 sig
предвреме	20	1.88 ± 0.9	0 – 32	1.9 (1.2 – 2.6)	

Z (Mann-Whitney test)



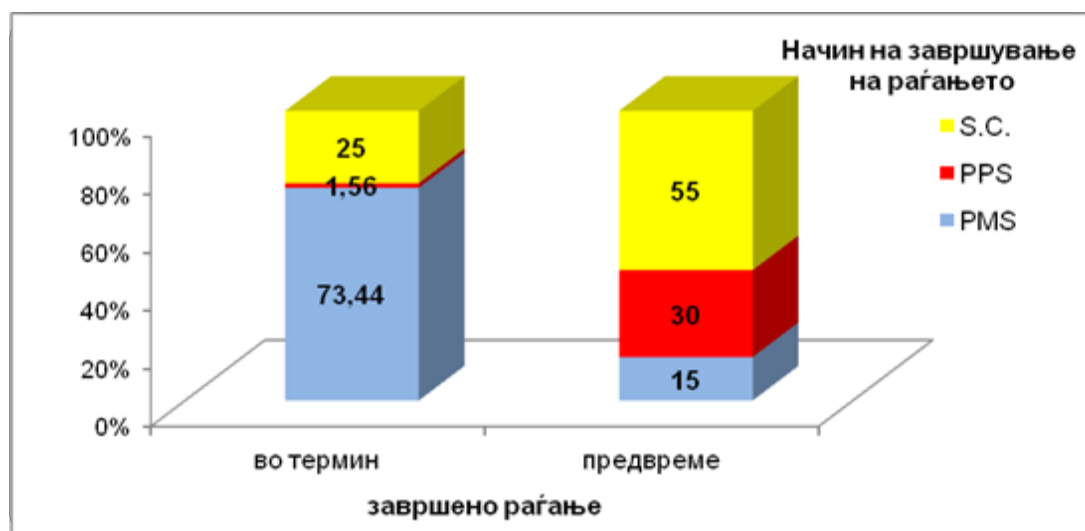
Слика 6.9. Графички приказ на средни вредности на глукоза во амнионска течност - пациентки породени предвреме и во термин (ммол/Л)

Двете групи испитанички сигнификантно се разликуваа во однос на начинот на породување ($p < 0.0001$). Вагинално породување беше почесто кај пациентките породени во термин – 75% (96) наспроти 45% (9). Со царски рез се породиле 55% (11) предвреме породени пациентки и 25% (32) пациентки породени во термин. (табела 6.18, слика 6.10).

Табела 6.18. Начин на породување - пациентки породени предвреме и во термин

Начин на породување	N	завршено раѓање		p-level
		во термин n(%)	предвреме n(%)	
PMS	97	94 (73.44)	3 (15)	$X^2=40.25$ $p=0.0000$ sig
PPS	8	2 (1.56)	6 (30)	
S.C.	43	32 (25)	11 (55)	

X^2 (Pearson Chi-square)



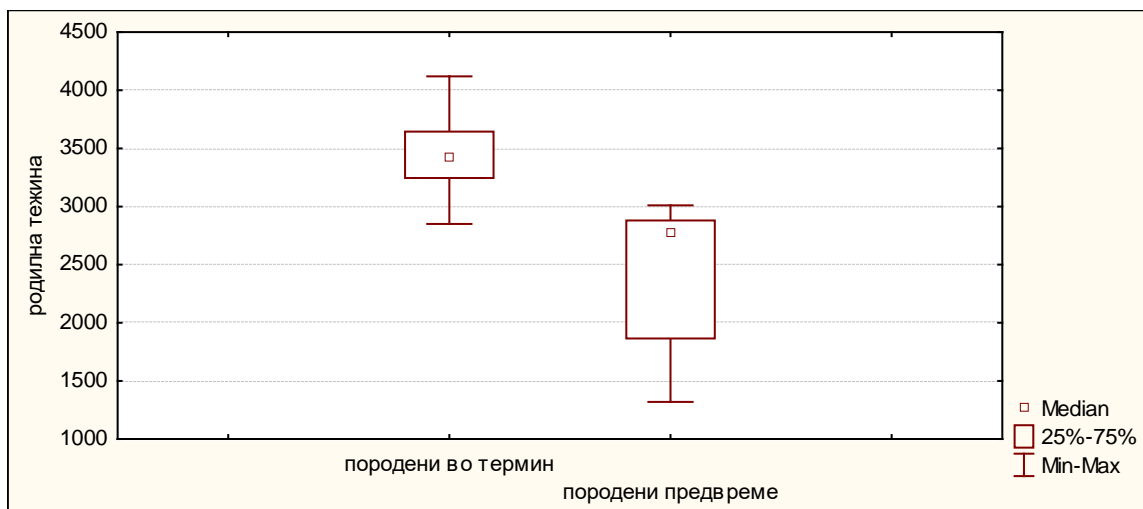
Слика 6.10. Графички приказ на начин на завршено раѓање - пациентки породени предвреме и во термин

Гестациската недела на породување има сигнификантно влијание врз родилната тежина на новородените ($p < 0.0001$). На раѓање сигнификантно пониска телесна тежина имаа предвреме родените новороденчиња. Просечната родилна тежина на новороденчињата од предвреме породени мајки беше 2458.5 ± 590.3 грама, средната родилна тежина 2775 грама, просечната родилна тежина на новороденчињата од термински породени мајки беше 3464.45 ± 278.7 грама, средната родилна тежина 3430 грама. (табела 6.19, слика 6.11).

Табела 6.19. Родилна тежина на новородени - пациентки породени предвреме и во термин

завршено раѓање	Descriptive Statistics (родилна тежина)			p-level
	n	mean ± SD	median (IQR)	
во термин	128	3464.45 ± 278.7	3430(3245-3645)	Z=7.05
предвреме	20	2458.5 ± 590.3	2775(1865-2880)	p=0.0000 sig

Z (Mann-Whitney test)



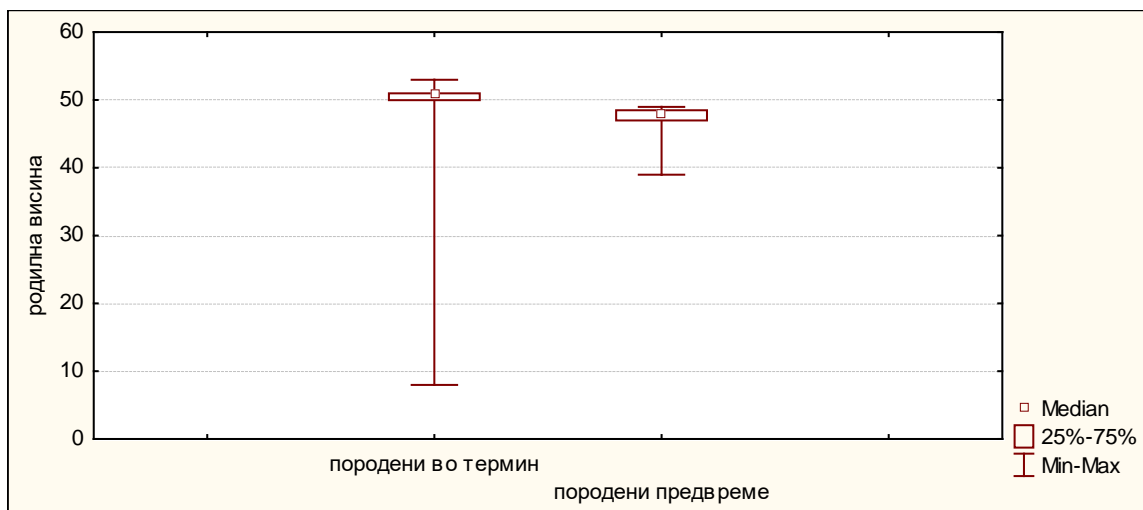
Слика 6.11. Средна родилна тежина на новородени - пациентки породени предвреме и во термин

И родилната должина на новороденчињата сигнификантно се разликуваше меѓу двете групи испитанички ($p < 0.0001$). Значајно помала родилна должина беше измерена кај предвреме родените новороденчиња споредено со термински родени (mean = 46.9 ± 2.9 , median=48 наспроти mean = 50.3 ± 3.9 , median=51) (табела 6.20, слика 6.12).

Табела 6.20. Родилна должина на новородени - пациентки породени предвреме и во термин

завршено раѓање	Descriptive Statistics (родилна должина)			p-level
	n	mean ± SD	median (IQR)	
во термин	128	50.34 ± 3.9	51 (50 – 51)	Z=6.87
предвреме	20	46.9 ± 2.9	48 (47 – 48.5)	p=0.0000 sig

Z (Mann-Whitney test)



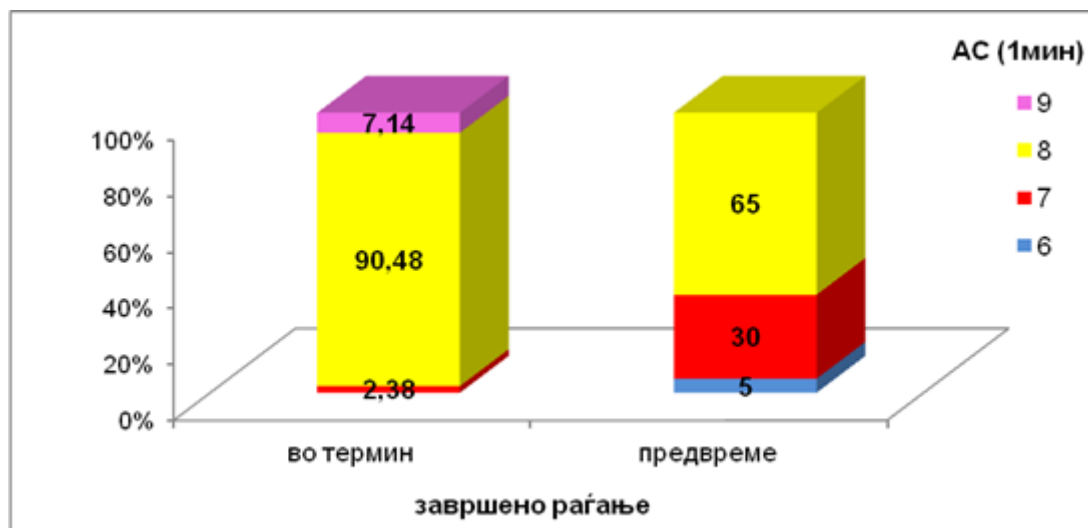
Слика 6.12. Средна родилна должина на новородени - пациентки породени предвреме и во термин

Согласно резултатите од табела 6.21, гестациската недела на породување имаше сигнификантно влијание врз вредноста на APGAR скорот во првата минута по раѓање ($p < 0.001$). Пониски вредности на овој параметар беа регистрирани кај предвреме родените новороденчиња.

Едно новородено во групата предвреме родени имаше вредност на APGAR скор во 1-ва минута 6, 30% (6) имаа APGAR скор 7, а 65% (13) новороденчиња во оваа група веднаш по раѓање имаа APGAR скор 8. Во групата термински родени, 2.4% (3) новороденчиња имаа APGAR скор 7, 90.5% (114) имаа вредност 8, а кај 7.1% (9) новороденчиња родени во термин вредноста на Апгар скорот по раѓање беше 9. (табела 6.21, слика 6.13).

Табела 6.21. APGAR скор во 1-ва минута на новородени - пациентки породени предвреме и во термин

APGAR 1-ва мин	завршено раѓање			p-level
	n	во термин n(%)	предвреме n(%)	
6	1	0	1 (5)	Fisher exact $p < 0.001$ sig
7	9	3 (2.38)	6 (30)	
8	127	114 (90.48)	13 (65)	
9	9	9 (7.14)	0	



Слика 6.13. Графички приказ на Апгар скор во 1-ва минута на новородени - пациентки породени предвреме и во термин

Просечниот APGAR скор регистриран во 1-ва минута по раѓање имаше вредност од 7.6 ± 0.6 во групата предвреме родени новороденчиња, а 8.05 ± 0.3 во групата термински родени; половина предвреме родени новороденчиња имаа APGAR скор понизок од 7, а половина новороденчиња родени во термин имаа понизок од 8.

За $p=0.007$ се потврди статистички сигнификантна разлика меѓу двете групи новородени во однос на средната вредност на APGAR скор-от во прва минута по раѓање (табела 6.22).

Табела 6.22. Просечна и средна вредност на APGAR скор во 1-ва минута пациентки породени предвреме и во термин

завршено раѓање	Descriptive Statistics (APGAR 1-ва мин)				p-level
	n	mean \pm SD	min-max	median (IQR)	
во термин	126	8.05 ± 0.3	7 – 9	8 (7 – 8)	Z=2.68
предвреме	20	7.6 ± 0.6	6 – 8	7(6 – 8)	p=0.007 sig

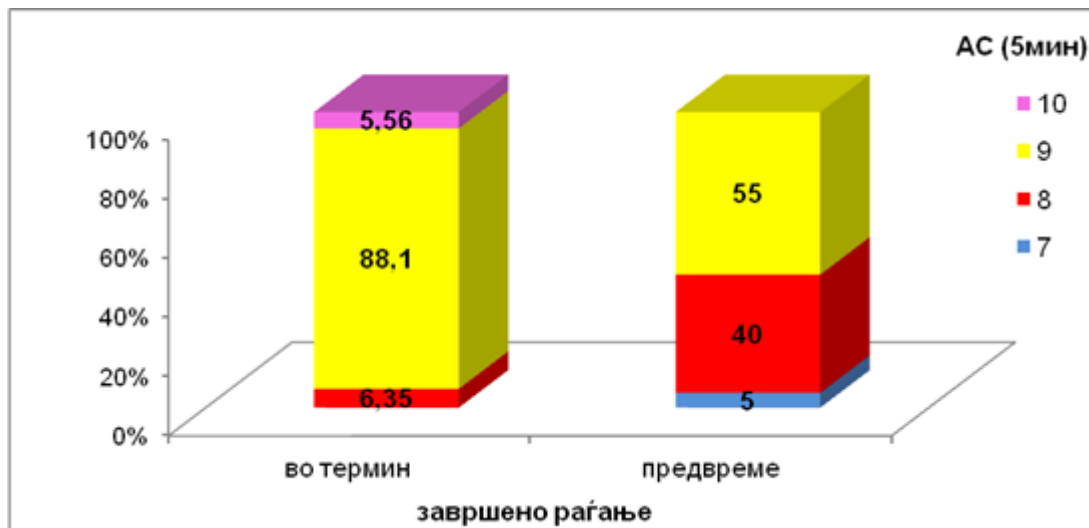
Z (Mann-Whitney test)

Во 5-та минута по раѓање, APGAR скор 7 беше регистриран кај едно новородено од групата предвреме родени, APGAR скор 8 имаа 40% (8) предвреме родени и 6.35% (8) термински родени, APGAR скор 9 имаа 55% (11) предвреме родени и 88.1% (111) термински родени новороденчиња, 5.6% (7) новороденчиња родени во термин имаа 10 APGAR скор во 5-та минута по раѓање.

Овие опишани разлики во вредноста на APGAR скор регистриран 5-та минута по раѓање кај двете групи новороденчиња и статистички се потврдија како сигнификантни односно значајни ($p < 0.001$). (табела 6.23, слика 6.14).

Табела 6.23. APGAR скор во 5-та минута - пациентки породени предвреме и во термин

APGAR 5-та мин	завршено раѓање			p-level
	N	во термин n(%)	предвреме n(%)	
7	1	0	1 (5)	Fisher exact $p < 0.001$ sig
8	16	8 (6.35)	8 (40)	
9	122	111 (88.1)	11 (55)	
10	7	7 (5.56)	0	



Слика 6.14. Графички приказ на APGAR скор во 5-та минута на новородени пациентки породени предвреме и во термин

За $p = 0.0026$ се потврди статистички сигнификантна разлика меѓу двете групи новородени во однос на средната вредност на APGAR скор и во 5-та минута по раѓање.

Просечниот APGAR скор регистриран во 5-та минута по раѓање имаше вредност од 8.5 ± 0.6 во групата предвреме родени новороденчиња, а 8.99 ± 0.35 во групата термински родени; половина предвреме родени новороденчиња имаа APGAR скор понизок од 8, а половина новороденчиња родени во термин имаа понизок од 9 (табела 6.24).

Табела 6.24. Просечна и средна вредност на APGAR скор во 5-та минута – пациентки породени предвреме и во термин

завршено раѓање	Descriptive Statistics (APGAR 5-та мин)				p-level
	n	mean ± SD	min-max	median (IQR)	
во термин	126	8.99 ± 0.35	8 – 10	9 (8 – 9)	Z=3.01
Предвреме	20	8.5 ± 0.6	7 – 9	8 (7 – 9)	p=0.0026 sig

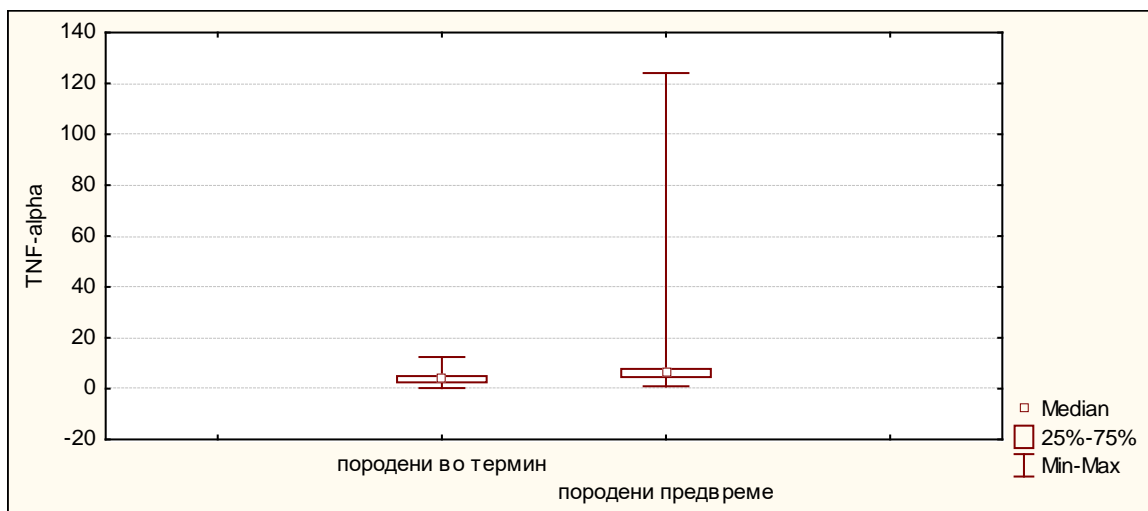
Z (Mann-Whitney test)

Пациентките предвреме и термински породени имаа сигнификантно различни концентрации на TNF-α во амнионската течност (p=0.0013). Во групата породени пред 37-ма г.н. беа измерени значајно повисоки TNF-α вредности. Овој инфламаторен маркер во амнионската течност имаше просечна вредност од 12.04 ± 26.6 pg/ml кај пациентките предвреме породени, а 4.04 ± 2.1 pg/ml кај пациентките породени во термин; средните концентрации на TNF-α во двете групи пациентки изнесуваа 6.67 и 3.96 pg/ml консеквентно (табела 6.25, слика 6.15).

Табела 6.25. Вредност на TNF-α во амнионска течност кај пациентки породени предвреме и во термин

завршено раѓање	Descriptive Statistics (TNF -α pg/ml)			p-level
	n	mean ± SD	median (IQR)	
во термин	128	4.04 ± 2.1	3.96 (2.49 – 4.94)	Z=-3.22
Предвреме	20	12.04 ± 26.6	6.67 (4.55 – 7.76)	p=0.0013 sig

Z (Mann-Whitney test)



Слика 6.15. Графички приказ на средни вредности на TNFα во амнионска течност - пациентки породени предвреме и во термин

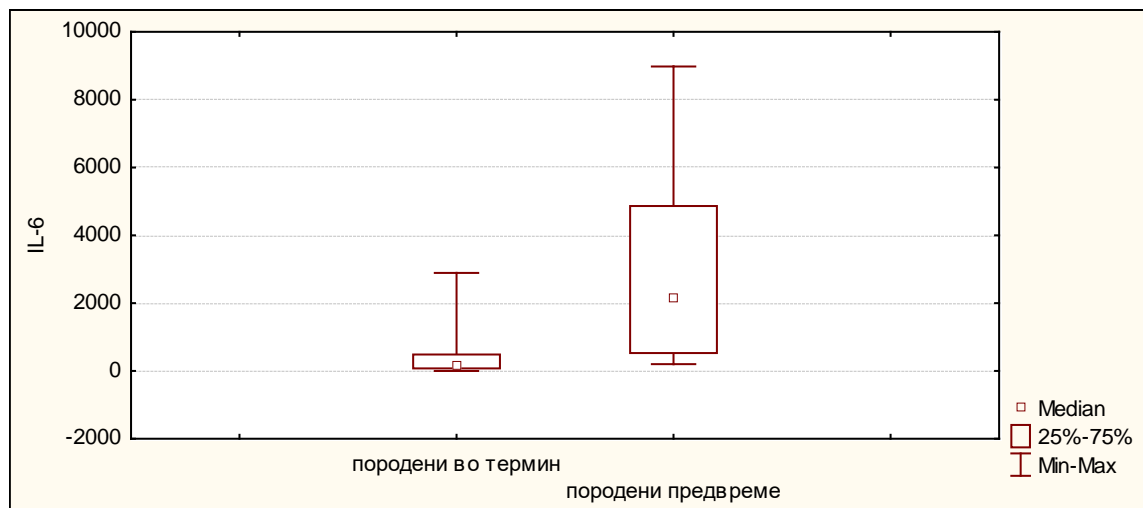
Резултатите од статистичката анализа покажаа сигнификантно различни вредности на IL-6 инфламаторниот медијатор во амнионската течност, а во зависност од времето на породување, пред и по 37-ма г.н. ($p < 0.0001$). Вредностите на овој параметар беа значајно повисоки во амнионската течност земена од пациентки кои се породиле предвреме.

Во групата пациентки породени предвреме, во амнионската течност се измерени просечни вредности на IL-6 од 2661.34 ± 2452.9 pg/ml, а средни вредности од 2186 pg/ml. Во групата пациентки породени во термин, просечните вредности изнесуваа 380.51 ± 493.9 pg/ml, а средните вредности 164 pg/ml. (табела 6.26, слика 6.16).

Табела 6.26. Вредност на IL-6 во амнионска течност - пациентки породени предвреме и во термин

завршено раѓање	Descriptive Statistics (IL-6)			p-level
	n	mean \pm SD	median (IQR)	
во термин	128	380.51 ± 493.9	164.7(77.1 - 487.8)	Z=-5.41
Предвреме	20	2661.34 ± 2452.9	2186(529.5 - 4866.5)	p=0.0000 sig

Z (Mann-Whitney test)



Слика 6.16. Графички приказ на средни вредности на IL-6 во амнионска течност - пациентки породени предвреме и во термин

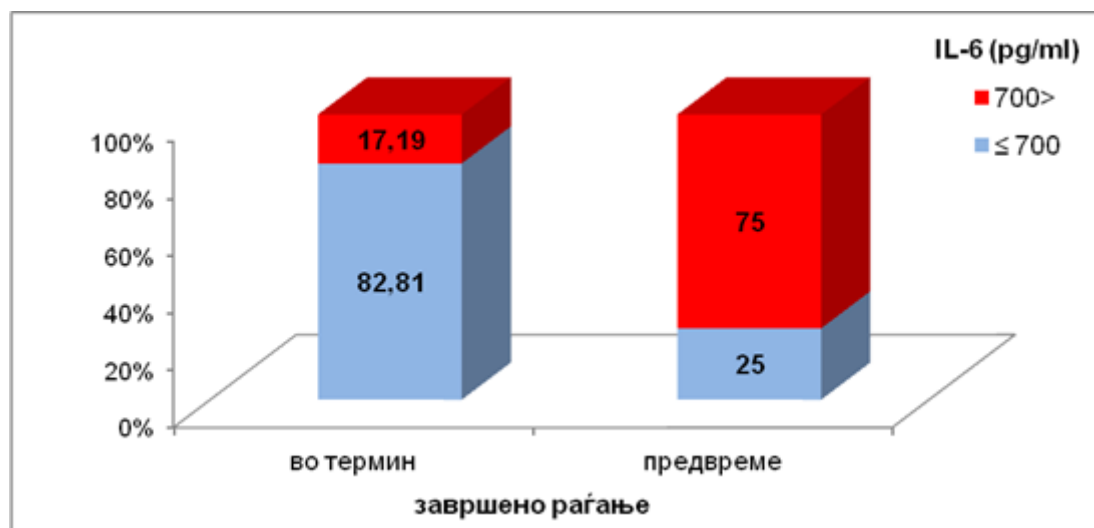
Концентрациите на IL-6 во амнионската течност сигнификантно се разликуваа кај предвремено и термински породените пациентки, и при нивно анализирање како нормални и зголемени односно вредности пониски и повисоки од 700 pg/ml ($p < 0.0001$).

Нормални вредности на овој воспалителен параметар беа измерени кај 25% (5) предвремено породени и 82.8% (106) термински породени пациентки; зголемени вредности беа измерени кај 75% (15) предвремено породени и 17.2% (22) термински породени пациентки. (табела 6.27, слика 6.17).

Табела 6.27. Вредности на IL-6 во амнионска течност под и над 700 - пациентки породени предвреме и во термин

IL-6 pg/ml	завршено раѓање			p-level
	n	во термин n(%)	предвреме n(%)	
≤ 700	111	106 (82.81)	5 (25)	X ² =30.8 p=0.0000 sig
700>	37	22 (17.19)	15 (75)	

X² (Pearson Chi-square)



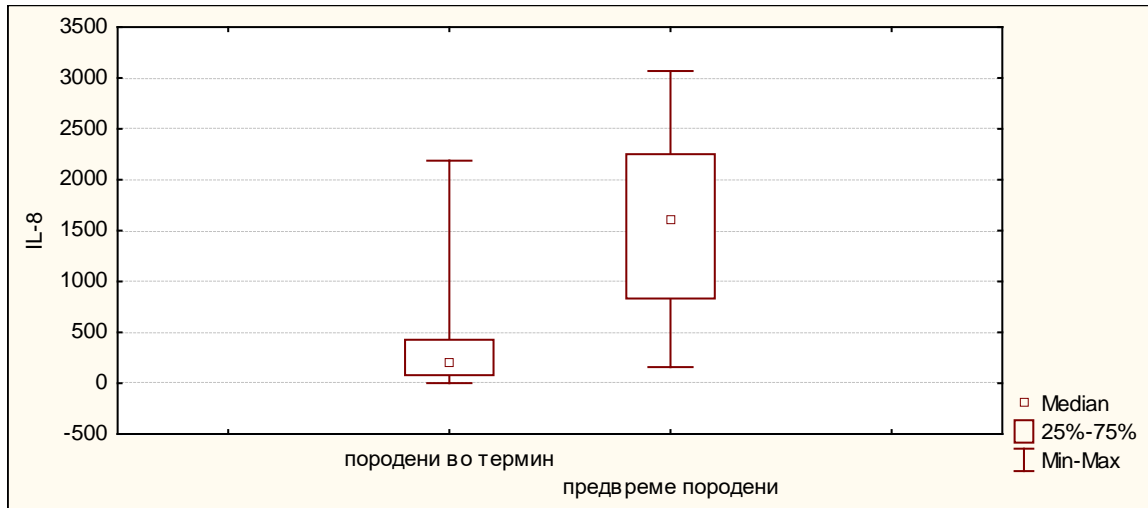
Слика 6.17. Графички приказ на вредности на IL-6 во амнионска течност под и над 700 - пациентки породени предвреме и во термин

Пациентките предвреме породени имаа сигнификантно повисоки вредности на IL-8 во амнионската течност споредено со термински породените пациентки ($p < 0.0001$). Просечните концентрации на овој параметар во амнионската течност во групите породени пред 37-ма и по 37-ма гестациска недела беа 1585.7 ± 834.7 и 360.65 ± 459.3 pg/ml, консеквентно; средните концентрации беа 1598 и 198 pg/ml, консеквентно (табела 6.28, слика 6.18).

Табела 6.28. Вредност на IL-8 во амнионска течност - пациентки породени предвреме и во термин

завршено раѓање	Descriptive Statistics (IL-8)			p-level
	n	mean ± SD	median (IQR)	
во термин	128	360.65 ± 459.3	198.2(78.4 – 427.2)	Z=5.99
Предвреме	20	1585.7 ± 834.7	1598.8(832.5-2251.6)	p=0.00000 sig

Z (Mann-Whitney test)



Слика 6.18. Графички приказ на средни вредности на IL-8 во амнионска течност - пациентки породени предвреме и во термин

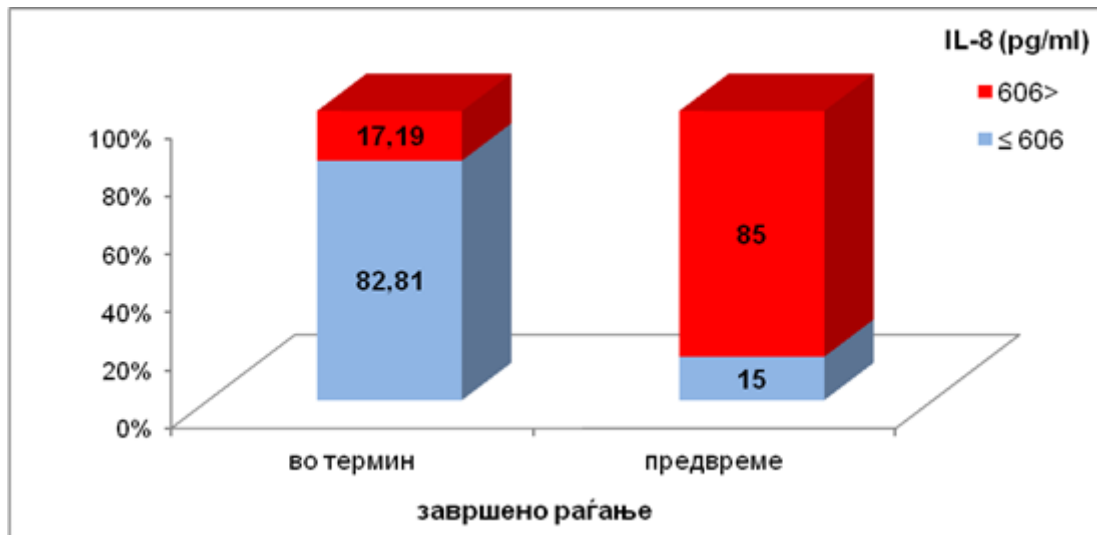
Нормални вредности на инфламаторниот маркер IL-8 во амнионската течност беа измерени кај 15% (3) предвремено породени и 82.8% (106) термински породени пациентки; зголемени вредности, повисоки од 606 pg/ml беа измерени кај 85% (17) предвремено породени и 17.2% (2) термински породени пациентки.

Овие опишани разлики во дистрибуцијата на вредностите на IL-8 во амнионската течност пониски и повисоки од 606 pg/ml меѓу групите пациентки породени предвремено и породени во термин и статистички се потврдија како сигнификантни односно значајни, за $p < 0.0001$. Пациентките родени пред термин значајно почесто од термински породените имаа зголемени вредности на IL-8 во амнионската течност (табела 6.29, слика 6.29).

Табела 6.29. Вредности на IL-8 во амнионска течност под и над 606 - пациентки породени предвреме и во термин

IL-8 pg/ml	завршено раѓање			p-level
	n	во термин n(%)	предвреме n(%)	
≤ 606		106 (82.81)	3 (15)	X ² =41 p=0.0000 sig
606>		22 (17.19)	17 (85)	

X² (Pearson Chi-square)



Слика 6.19. Графички приказ на вредности на IL-8 во амнионска течност под и над 606 pg/ml - пациентки породени предвреме и во термин

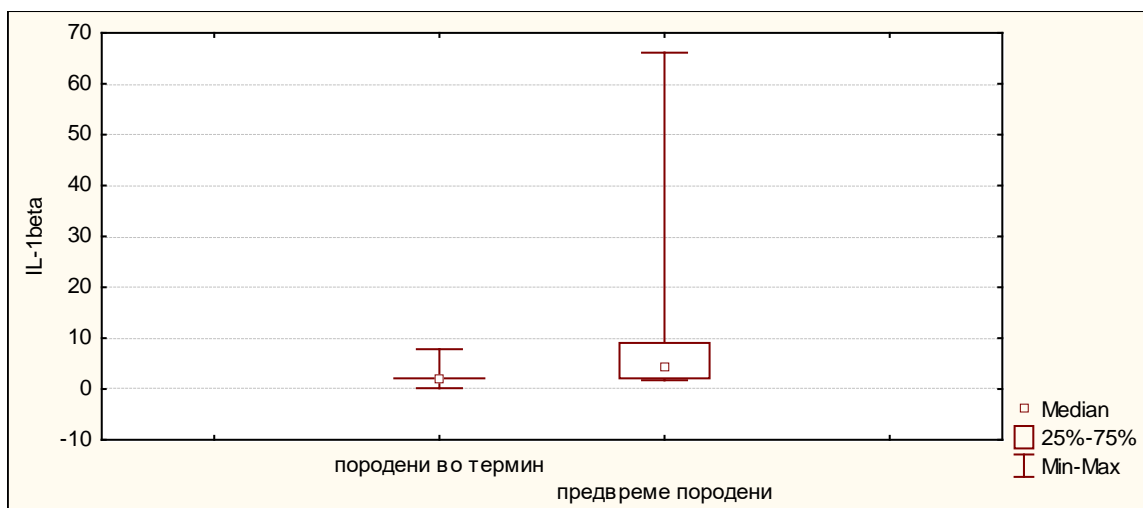
Сите пациентки, и предвремено и термински породени, имаа нормални вредности на IL-1 β во амнионската течност.

Во рамките на овие нормални вредности, пациентките предвремено породени имаа сигнификантно повисоки вредности од пациентките породени во термин ($p=0.000004$). Во групата предвремено породени, просечните вредности на IL-1 β во амнионската течност беа 9.36 ± 14.6 pg/ml, средните вредности 4.49 pg/ml; во групата породени во термин, просечните вредности на IL-1 β во амнионската течност беа 2.11 ± 0.9 pg/ml, средните вредности 2.19 pg/ml. (табела 6.30, слика 6.20).

Табела 6.30. Вредности на IL-1 β во амнионска течност - пациентки породени предвреме и во термин

завршено раѓање	Descriptive Statistics (IL-1 β)			p-level
	n	mean \pm SD	median (IQR)	
во термин	128	2.11 \pm 0.9	2.19 (2.19 – 2.19)	Z=4.59 p=0.000004 sig
предвреме	20	9.36 \pm 14.6	4.49 (2.19 – 9.15)	

Z (Mann-Whitney test)



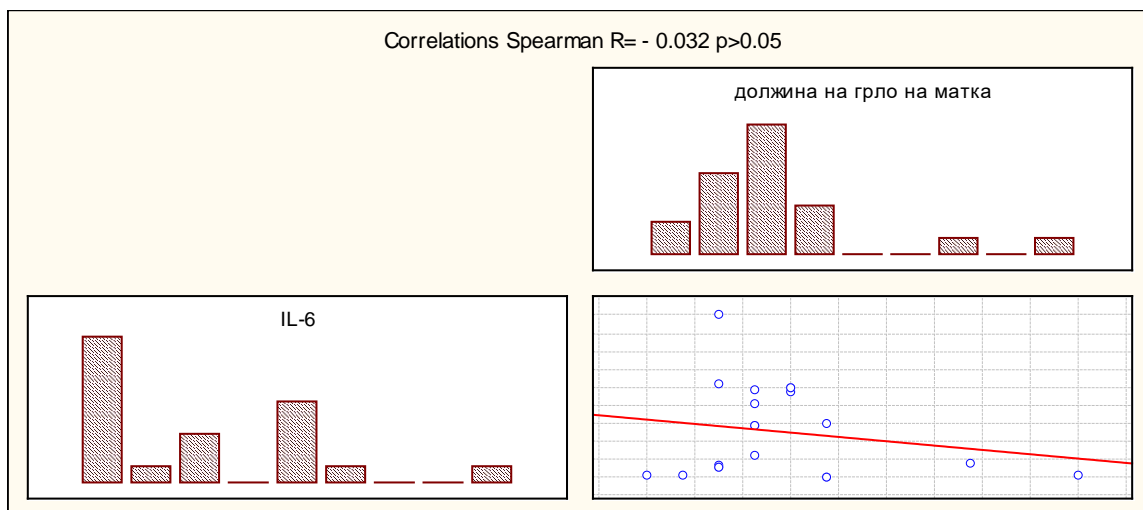
Слика 6.20. Графички приказ на средни вредности на IL-1 β во амнионска течност - пациентки породени предвреме и во термин

Во нашето истражување не најдовме сигнификантна корелација помеѓу должината на грлото на матката со вредноста на IL-6 и IL-8 во амнионската течност кај предвремено породените трудници.

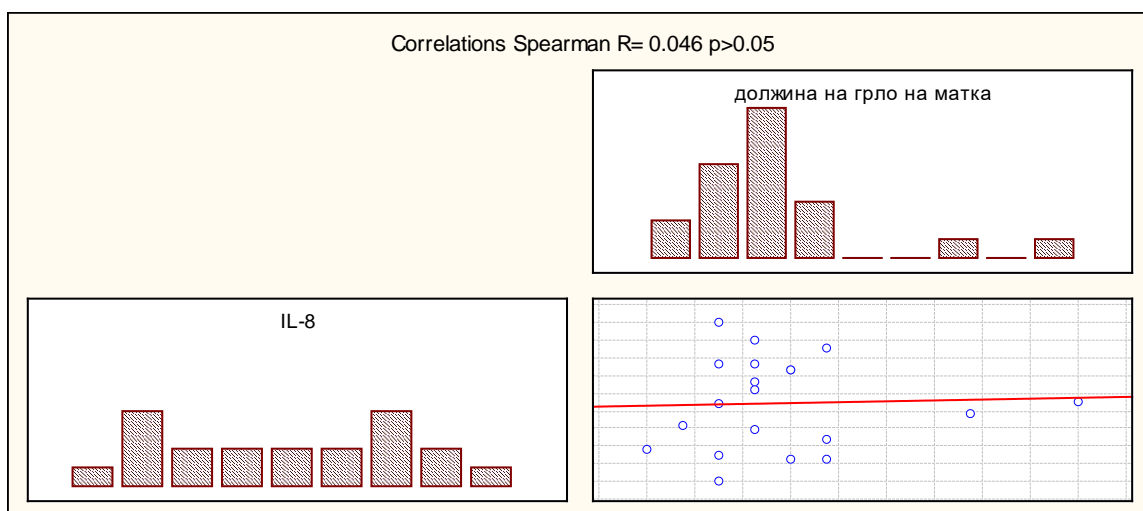
Резултатите од испитуваните корелации покажуваат дека помеѓу должината на грлото на матката и инфламаторниот маркер IL-6 во амнионската течност постои негативна односно индиректна поврзаност ($R = -0.032$) односно со зголемување на должината на грлото на матката кај оваа група на предвремено породени трудници, нивото на IL-6 во амнионската течност се намалуваше и обратното. Поврзаноста пак меѓу должината на грлото на матката и инфламаторниот маркер IL-8 во амнионската течност беше позитивна односно директна односно со зголемување на должината на грлото на матката нивото на IL-8 во амнионската течност се зголемуваше и обратното. Но, и двете корелации статистички не беа сигнификантни односно значајни (табела 6.31, слика 6.21, слика 6.22).

Табела 6.31. Корелација на должина на грло на матка со интерлеукини во амнионска течност

Корелација	Spearman - R	p-level
IL-6 & должина на грлото на матката	-0.032	0.89 ns
IL-8 & должина на грлото на матката	0.046	0.85 ns



Слика 6.21. Корелација помеѓу должина на грло на матка со IL-6



Слика 6.22. Корелација помеѓу должина на грло на матка со IL-8

Во групата предвремено породени пациентки со должина на грлото на матката пократка од 25 мм беа измерени повисоки концентрации на IL-6 во амнионската течност (mean=2794.66 ± 2652.8, median=2186), споредено со пациентките предвремено породени и со должина на грлото на матката поголема од 25 мм (mean=2461.34 ± 2279.8, median=1994). Статистичката анализа не ја потврди сигнификантна разликата во вредностите на IL-6 во амнионската течност кај предвремено породените трудници со нормална и намалена должина на грлото на матката (p=0.76) (табела 6.32).

Табела 6.32. Вредности на IL-6 во амнионска течност при должина на грло на матка под и над 25 мм

должина на грлото на матката	Descriptive Statistics (IL-6)			p-level
	n	mean ± SD	median (IQR)	
< 25	12	2794.66 ± 2652.8	2186.01(753.8-4535.5)	Z=0.31
≥ 25	8	2461.34 ± 2279.8	1994.8(278.7-4932.2)	p=0.76 ns

Z (Mann-Whitney test)

Трудниците породени предвремено, со нормално и скратено грло на матката, не се разликуваа сигнификантно во однос на вредностите на IL-8 во амнионската течност ($p=0.64$). Просечните концентрации на овој инфламаторен маркер кај пациентките со должина на грлото на матката под и над 25 мм изнесуваа 1635.4 ± 895.9 pg/ml и 1511.15 ± 786.7 pg/ml консеквентно, средните вредности изнесуваа 1706 pg/ml и 1514 pg/ml консеквентно (табела 6.33).

Табела 6.33. Вредности на IL-8 во амнионска течност при должина на грло на матка под и над 25 мм

должина на грлото на матката	Descriptive Statistics (IL-8)			p-level
	n	mean ± SD	median (IQR)	
< 25	12	1635.4 ± 895.9	1706.5(919.4-2303.5)	Z=0.46
≥ 25	8	1511.15 ± 786.7	1514.4(746.7-2206.3)	p=0.64 ns

Z (Mann-Whitney test)

Во групата предвремено породени пациентки со должина на грлото на матката пократка од 25 mm позитивен микробиолошки наод имаа 62.5% (5) наспроти 41.7% (5) пациентки со позитивни микробиолошки наоди и нормална должина на грлото на матката. Не се потврди статистички сигнификантна разлика во дистрибуција на предвремено породените пациентки со уреден и со позитивен наод, а во зависност од должината на грлото на матката ($p=0.65$), (табела 6.34).

Табела 6.34. Зачестеност на позитивни микробиолошки наоди при должина на грло на матка под и над 25 мм

микробиолошки наод	должина на грлото на матката			p-level
	n	< 25 n(%)	≥ 25 n(%)	
Уреден	10	3 (37.5)	7 (58.33)	p=0.65 ns
Позитивен	10	5 (62.5)	5 (41.67)	

Fisher two-tailed

Во табела 6.35 се прикажани изолираните причинители од микробиолошките примероци кај пациентките предвремено породени со нормално и скратено грло на матка.

Табела 6.35. Микробиолошки примероци при должина на грло на матка под и над 25мм

микробиолошки примероци со позитивен наод	n (%)
должина на грлото на матката < 25мм	
<i>Candida albicans</i>	4 (50)
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1 (12.5)
должина на грлото на матката ≥ 25мм	
<i>Candida albicans</i> ,	1 (8.33)
<i>Candida albicans</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i>	1 (8.33)
<i>Candida albicans</i> , <i>Gardnerella vaginalis</i>	1 (8.33)
<i>Ureaplasma urealyticum</i> , <i>Gardnerella vaginalis</i>	2 (16.67)

6.2 Група 24-та до 28-ма гестациска недела

Во оваа серија на предвремено породени пациентки беше регистрирана една пациентка во групата екстремно предвремено породени (24 г.н. до 28 г.н.). Оваа пациентка породена во 27,3 –та г.н., беше на возраст од 32 години, без тешкотија и дополнителни заболувања во оваа бременост, со должина на грло на матка од 30 мм. Кај пациентката во амнионската течност беа детектирани *Candida albicans* и *Ureaplasma urealyticum*. Вредностите на TNF- α , IL-6, IL-8 и IL-1- β во амнионската течност изнесуваа 8.47 pg/ml, 4945 pg/ml, 2297 pg/ml и 10.4 pg/ml, консеквентно. Кај оваа пациентка во амнионската течност беа измерени силно зголемени вредности на IL-6 и IL-8.

6.3 Група 28-ма до 32-ра гестациска недела

Три пациентки се породија во термин од 28-ма до 32-ра г.н., и беа на возраст од 33, 35 и 32 години консеквентно. Две од овие три пациентки имаа скратена должина на грло на матка. Сите три пациентки имаа нормални вредности на TNF- α , и IL-1 β , а зголемени вредности на IL-6 и IL-8, односно тие беа покачени кај две пациентки. Две пациентки имаа позитивен наод во микробиолошки примерок (табела 6.36).

Табела 6.36. Карактеристики на пациентки породени од 28-ма до 32-ра г.н.

Варијабла	Пациенти		
	1	2	3
возраст (години)	33 г.	35 г.	32 г.
ИТМ	27.68	32.03	22.1
IL-6	4788.08	5226.1	4125.99
IL-8	553.86	3068.7	1982.4
TNF- α	16.94	8.87	7.89
IL-1 β	24.68	7.13	6.73
завршено образование	Средно	средно	високо
тешкотија во оваа бременост	Не	не	не
болести при оваа бременост	Не	не	не
Лекови	Не	не	не
начин на концепција	нормално	нормално	нормално
претходни бремености	1	1	1
број на термински породувања	2	2	1
број на спонтани абортуси	0	1	1
наоди од амниоцентеза	0	0	0
должина на грлото на матката	25	24	30
микробиолошки наод детектирани микроорганизми	позитивен <i>Ureaplasma</i> <i>urealyticum</i>	позитивен <i>Ureaplasma</i> <i>urealyticum</i> , <i>Gardnerella</i> <i>vaginalis</i>	Уреден
начин на завршување на раѓањето	SC	SC	PPS
родилна тежина	1420	1640	2020
родилна висина	39	47	46
APGAR 1 мин	7	8	7
APGAR 5 мин	8	9	8
родилен трауматизам	2	1	0
г.н.во кое е завршено раѓање	28.1	30.2	31.3

6.4 Група 32-ра до 36.6-та гестациска недела

Во групата пациентки породени меѓу 32-ра и 36.6-та г.н. беа регистрирани 16 трудници. Просечната возраст на овие пациентки беше 34.06 ± 4.8 години, должината на грлото на матката во просек беше пократка од 30.87 ± 3.0 см односно кај 7/16 пациентки беше измерена должина пократка од 25 мм. (табела 6.37).

Табела 6.37. *Возраст, ИТМ и должина на грло на матка кај пациентки породени меѓу 32-ра и 36.6-та г.н.*

Варијабла	mean ± SD
возраст	34.06 ± 4.8
ИТМ	22.19 ± 1.6
должина на грлото на матката	30.87 ± 3.0

Табела 6.38. *Карактеристики на пациентки породени од 32-ра до 36.6-та г.н.*

Варијабла		
тешкотија во оваа бременост		
да		1 (6.25)
Не		15 (93.75)
Лекови		
да		2 (12.5)
Не		14 (87.5)
начин на концепција		
нормално		13 (81.25)
ИВФ и ЕТ		3 (18.75)
претходни бремености		
0		6 (37.5)
1		10 (62.5)
спонтани абортуси		
0		6 (37.5)
1		8 (50)
2		2 (12.5)
должина на грлото на матката		
до 25		7 (43.75)
над 26		9 (56.25)
микробиолошки наод		
Уреден		9 (56.25)
Позитивен		7 (43.75)
детектирани микроорганизми		
<i>Candida albicans</i>		5 (71.43)
<i>Candida albicans, Garderella vaginalis</i>		1 (14.29)
<i>Ureaplasma urealyticum, Garderella vaginalis</i>		1 (14.29)

Кај сите 16 пациентки беа земени вагинални и цервикални примероци за микробиолошка обработка. Кај 7/16 (43,75 %) од пациентките беа добиени позитивни микробиолошки наоди. 10 пациентки имале претходни бремености и 10 имале спонтани абортуси (табела 6.38).

Просечната родилна тежина на новороденчињата беше 2673.12 ± 419.9 гр, поголем дел од нив со АПГАР скор 8 во 1-ва минута и 9 во 5-та минута – 12/16 и 10/16 консеквентно (табела 6.39, табела 6.39а).

Табела 6.39. Карактеристики на новородени кај пациентки породени меѓу 32-ра до 36.6-та г.н.

Варијабла	mean \pm SD
родилна тежина	2673.12 \pm 419.9
родилна висина	47.87 \pm 1.45

Табела 6.39а.

APGAR 1-ва мин	
7	4 (25)
8	12 (75)
APGAR 5-та мин	
8	6 (37.5)
9	10 (62.5)

Во табела 6.40 се прикажани просечните и средните вредности за анализираните инфламаторни медијатори во амнионската течност (табела 6.40).

Табела 6.40. Инфламаторни маркери во амнионска течност кај пациентки породени од 32-ра до 36.6-та г.н.

Варијабла	mean \pm SD	median (IQR)
TNF- α – pg/ml	12.41 \pm 29.9	5.49 (3.89 – 6.93)
IL-6	2133.85 \pm 2468.6	866.91(317.27 – 3023.78)
IL-8	1488.26 \pm 781.3	1491.44 (832.45 – 2206.3)
IL-1 β	8.64 \pm 15.9	3.13 (2.19 – 6.86)

Поголемиот дел од пациентките имаа зголемени вредности на IL-6 и IL-8 во амнионска течност односно 11/16 имаа покачен IL-6, а 14/16 пациентки имаа покачен IL-8 (табела 6.41).

Табела 6.41. Зголемени вредности на IL-6 и IL-8 кај пациентки породени од 32-ра до 36.6-та г.н.

Варијабла	зголемени вредности
IL-6 >700 pg/ml	11 (68.75)
IL-8>606 pg/ml	14 (87.5)

6.5 Логистичка регресиска анализа

Во овој дел од истражувањето прикажани се резултатите од Униваријантната и Мултиваријантна логистичка регресиска анализа за испитување на асоцираноста на анализираниите инфламаторни медијатори со предвремено породување (табела 6.42).

Согласно резултатите прикажани во табела 6.42, IL-6 и IL-8 се потврдија како синификантни предиктори за предвремено породување ($p=0.041$, $p=0.03$, консеквентно).

Концентрациите на IL-6 во амнионската течност повисоки од 700 pg/ml, го зголемуваат ризикот за предвремено породување за околу 3-пати, компарирано со концентрации пониски од 700 pg/ml (RR=3.232, 95% CI 2.911-5.425).

Табела 6.42. Логистичка регресиска анализа за предикција на предвремено породување

Варијабла	Униваријантна		Мултиваријантна	
	RR(95%CI)	p value	RR(95%CI)	p value
возраст	0.944 (0.863 – 1.033)	0.211		
BMI	0.875 (0.729 – 1.050)	0.15		
TNF α	1.357 (1.112 – 1.657)	0.033		
IL-6	4.133 (1.584 – 7.786)	0.014	3.232 (2.911 – 5.425)	0.041
IL-8	5.238 (1.757 – 11.92)	0.004	3.241 (1.121 – 9.375)	0.03
IL 1 β	2.270 (1.503 – 3.431)	0.02		
должина на на матка	2.192 (0.838 – 5.735)	0.11		
глукоза	0.523 (0.285 – 0.958)	0.036		

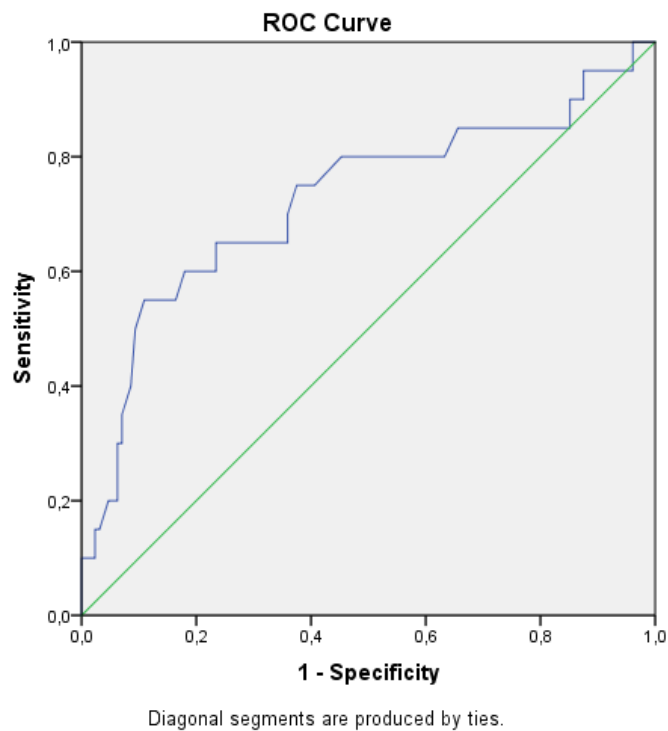
Концентрациите на IL-8 во амнионската течност повисоки од 606 pg/ml, го зголемуваат ризикот за предвремено породување за околу 3-пати, компарирано со концентрации пониски од 606 pg/ml (RR=3.241, 95% CI 1.121-9.375).

6.6 Receiver operating characteristic (ROC) анализа

6.6.1 TNF- α

Резултатите од ROC анализата за предикција на предвремено породување со TNF- α вредностите, покажаа дека големината на површината

под ROC кривата има вредност од 0.724 (95% CI 0.585-0.864) со сензитивност од 65% и специфичност од 70.5% (слика 6.23, табела 6.43.). Ова сугерира на заклучок дека TNF- α во амнионската течност има добра дискриминаторска способност во одделување на бремените жени со предвремено и терминско породување.



Слика 6.23. ROC крива за предикција на предвремено породување со TNF- α

Табела 6.43. Вредности на ROC кривата за TNF- α

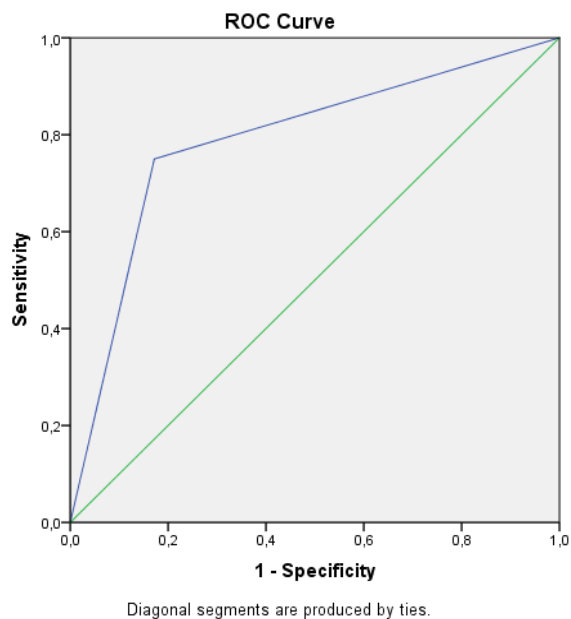
Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0.724	0.071	0.001	0.585	0.864

6.6.2 IL- 6

Резултатите од ROC анализата за предикција на предвремено породување со помош на IL-6 маркерот (слика 6.24), покажаа дека големината на површината под ROC кривата има вредност од 0.789 (95% CI 0.672 – 0.906), со сензитивност од 75% (15/20), специфичност 82.8% (106/128), позитивна предиктивна вредност 40.5% (15/37) како и негативна предиктивна вредност од 95% (106/111) (табела 6.44.).

Овие резултатите сугерираат на заклучок дека IL-6 во амнионската течност има добра дискриминаторска способност во разграничување на бремените жени со предвремено и терминско породување.

Бремените жени предвремено породени имаат 78.9% поголема веројатност од бремените жени породени во термин да имаат амнионски концентрации на IL-6 повисоки од 700 pg/ml.



Слика 6.24. ROC крива за предикција на предвремено породување со IL-6

Табела 6.44. Вредности на ROC кривата за IL-6

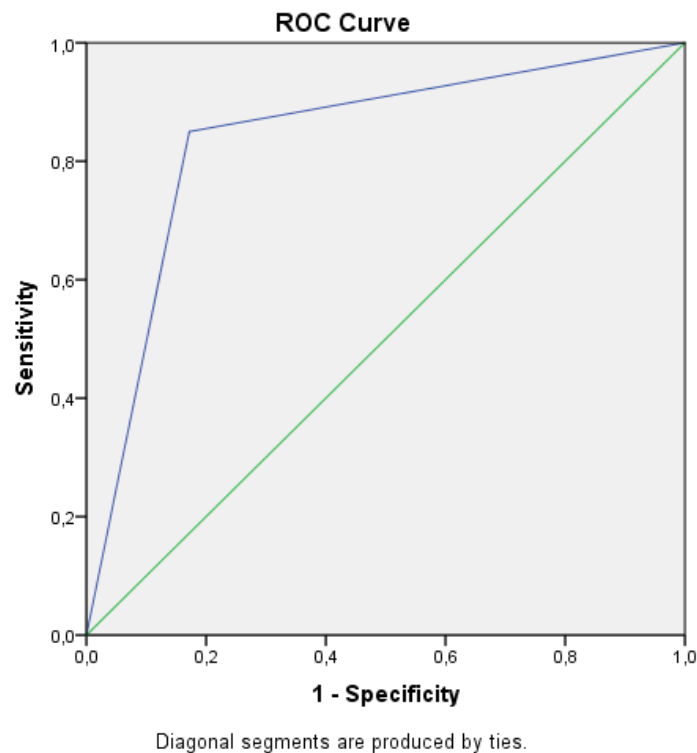
Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0.789	0.060	0.000	0.672	0.906

6.6.3 IL-8

Резултатите од ROC анализата за предикција на предвремено породување со помош на IL-8 маркерот, покажаа дека големината на површината под ROC кривата има вредност од 0.839 (95% CI 0.741 – 0.937), со сензитивност од 85% (17/20), специфичност 82.8% (106/128), позитивна предиктивна вредност 43.6% (17/39) како и негативна предиктивна вредност од 97.2% (106/109), (слика 6.25, табела 6.45).

Овие резултати сугерираат на заклучок дека IL-8 во амнионската течност претставува многу добар дискриминатор во разграничување на бремените жени со предвремено и терминско породување.

Бремените жени предвремено породени имаат 83.9% поголема веројатност од бремените жени породени во термин да имаат амнионски концентрации на IL-8 повисоки од 606 pg/ml.



Слика 6.25. ROC крива за предикција на предвремено породување со IL-8

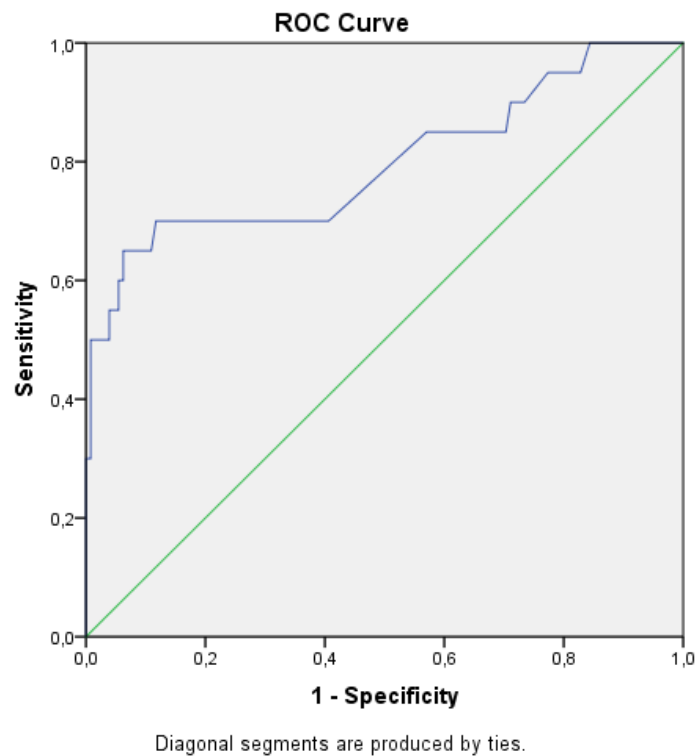
Табела 6.45. Вредности на ROC кривата за IL-8

Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0.839	0.076	0.000	0.741	0.937

6.6.4 IL 1-β

Резултатите од ROC анализата за предикција на предвремено породување со IL 1-β вредностите покажаа дека големината на површината

под ROC кривата има вредност од 0.797 (95% CI 0.667-0.927) со сензитивност од 70% и специфичност од 73.4%, (слика 6.26, табела 6.46).



Слика 6.26. ROC крива за предикција на предвремено породување со IL-1 β

Табела 6.46. Вредности на ROC кривата за IL-1 β

Area	Std. Error ^a	Asymptotic Sig. ^b	Asymptotic 95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0.797	0.066	0.000	0.667	0.927

Ова сугерира на заклучок дека IL-1 β - во амнионската течност има добра дискриминаторска способност во одделување на бремените жени со предвремено и терминско породување.

7. ДИСКУСИЈА

Предвременото породување претставува многу значаен дел на перинатологијата. Кај оваа тематика многу работи сеуште не се доволно истражени и докажани баш заради нејзината обемност. Тука постои широко поле за истражување и затоа во светот па и кај нас се работат безброј истражувања во разни правци поврзани со оваа тематика, а се со цел подобрување и усовршување на неговото предвидување, дијагностицирање и третман.

Предвременото породување претставува голем социоекономски фактор заради неговата поврзаност со висок степен на морбидитет и морталитет. Тоа со себе носи многу големи трошоци не само за време на дијагностицирањето на пациентката, но и во текот на породувањето, а особено по породувањето за третман и грижа на самото новороденче. Исто така, за згрижување на овие компликации потребен е обучен кадар како од акушерско ниво така и од педијатриско.

Во Република Северна Македонија годишно има околу 20.000 раѓања, од кои 11 % се предвремени, додека на Универзитетската клиника за гинекологија и акушерство-Скопје годишно има околу 5000 породувања. Од нив околу 800 се предвремени породувања. Овој повисок процент од 16 % се должи на фактот што нашата клиника е регионален центар за предвременно раѓање, со што сите пациентки кои се на ризик се препраќаат токму во нашата болница. Затоа и нам ни е од голем интерес подобрување и усовршување на исходот од нив на што се темели оваа докторска дисертација.

На светско ниво, процентот се движи од 5% во некои високо развиени европски земји до 15% во неразвиените афрички земји. Глобално процентот изнесува околу 11 %⁵⁹.

Во оваа студија кај 13 % на пациентките настана предвременно породување. Односно од вкупно 150 пациентки, 20 се породиле предвременно, а кај две бременоста се прекина јатрогено поради медицинска индикација.

Оваа студија е направена токму за предвидување на пациентките кои би се породиле предвременно во време кога тие се уште се асимптоматски и не се

насетува ниеден ризик околу настапување на оваа несакана компликација. Така би имале доволно време да ја подготвиме пациентката за евентуално настанување на предвременно породување, да ја заштитиме со соодветна терапија за да би ги намалиле последиците од несаканите ефекти од предвременото породување, а можеби и да го спречиме.

Во оваа докторска дисертација истражувани се параметри кои во последниве неколку години се многу актуелни во Европа како и во САД, при што се прават мултицентрични испитувања на големи групи пациенти со цел за докажување на влијанието на овие фактори и поврзаноста со настапување на предвременото породување⁶⁰.

Амнионската течност за прв пат во нашата држава се користи како медиум за ново истражување што го прави ова испитување многу интересно, модерно, напредно и значајно.

7.1 Основни карактеристики на пациентките во испитуваната група

Во студијата прикажани се резултатите добиени со обработка и анализа на 150 испитанички, со еднинечна бременост и со медицинска индикација за амниоцентеза во раното второ тримесечје односно од 16 г.н.– 22 г.н. Кај овие пациентки амниоцентезата секако беше индицирана од медицински причини. Пациентките беа следени се до нивното породување.

- Гестациска недела

Во просек, неделата во која е завршено породувањето беше 41.6 ± 3.2 г.н. во групата породени во термин и 34.0 ± 2.7 г.н. во групата предвременно породени, средната недела на породување беше 39.1 и 35.1 г.н. консеквентно. За разлика од нашата испитаничка група во други трудови со слична тематика, испитаничката група која се породила во термин била со средна вредност од 39.7 (38.9–40.7) г.н., и вредност од 35.5 (34.5–36.3) г.н. во групата предвременно породени⁶¹. Сепак многу од терминските породувања и гестациската недела зависат од начинот на водење на бременостите во различни држави и начинот на постапување при индукција на термински породувања.

- Возраст на пациентките

Во однос на старосната граница односно возраста на пациентките резултатите беа хомогени во однос на групата со предвремено породени пациентки и групата на пациентки породени во термин. Односно, пациентките од двете групи не се разликуваа во однос на возраста ($p=0.21$). Исто така, и во студијата на Maria-Teresa Gervasi и сор.²⁹ не постоела сигнификантна разлика во медијаната на мајчината возраст, како и во повеќето трудови кои обработувале слична проблематика разлика не е најдена.

Пациентките породени пред 37-ма гестациска недела беа на возраст од 24 до 42 години, со просечна возраст од 34.15 ± 4.1 , пациентките породени по 37 гестациски недели беа на возраст од 19 до 42 години, со просечна возраст од 35.7 ± 5.1 .

- Степен на образование

Во однос на степенот на образование не се најде на сигнификантна разлика во испитаничката група. Пациентките предвремено породени и пациентките породени во термин не се разликуваа сигнификантно во однос на степенот на образование ($p=0.41$). Со среден степен на образование беа половина пациентки од двете групи, високо образование имаа 50% (10) предвремено и 42.2% (54) термиски породени пациентки. Во групата породени по 37 г.н. имаше 7.8% (10) пациентки со основно образование. Во најголемата проспективна кохортна студија изработена во 12 европски земји на 75 296 пациенти, истражувачите пронашле сигнификантна разлика во степенот на образование помеѓу тие кои се породиле во термин и предвремено породените пациентки⁶². Сепак тие немаат точно заклучено на што се должи оваа разлика.

- ИТМ- Индекс на телесна маса

Индексот на телесна маса (ИТМ), исто така, беше несигнификантен помеѓу двете групи ($p=0,15$). Тој беше со просечна вредност од 23.23 ± 3.0 во групата породени пред 37 гестациски недели, а 24.23 ± 2.8 во групата термински породени. Слични бројки се добиени и во другите студии кои може

да се споредат, со што може да заклучиме дека индексот на телесна тежина нема значајност врз ризикот за предвремено породување⁶³.

- Дополнителни тешкотии

Тешкотии во оваа бременост почесто имаа пациентките кои се породени пред 37-ма г.н. Почестата појава на тешкотија во бременоста кај предвремено породените пациентки, статистички се потврди како сигнификантна односно значајна ($p < 0.0001$), слични резултати се добиени и во многу други студии⁶⁴.

- Коморбидитети

Во однос на коморбидитетите во текот на бременоста во групата пациентки породени во термин не беа дијагностицирани заболувања во бременоста додека кај тие предвремено породени имаше само 4 пациентки кај кој се јави гестациски дијабет и прееклампсија. Со статистичка сигнификантност од $p < 0.0001$ беше потврдена разликата во дистрибуција на пациентки со и без болести појавени во текот на бременоста, а во зависност од гестациската недела во која настапило породувањето. Слични резултати се добиени и во други трудови^{61,65}.

- ИВФ и ЕТ

Во однос на начинот на зачнување на бременоста кај 9 пациентки бременоста настанала како резултат на ИВФ и ЕТ. Во групата породени пред 37-ма г.н. 15% (3) испитанички забремениле на овој начин, а во групата породени по 37-ма г.н. односно термински породувања 4.7% (6) испитанички. Статистичката анализа не потврди сигнификантна разлика во начинот на концепција кај пациентките предвремено и термински породени ($p = 0.19$). Во други трудови со слична тематика се добиени слични резултати⁶⁶.

- Паритет

Пациентките породени предвремено за разлика од тие породени во термин поретко имале термински породувања во претходните бремености. Во

групата породени пред 37-ма г.н. нема пациентки со 4 и 5 претходни термински породувања наспроти шест и една пациентка консеквентно во групата породени по 37 г.н. Слични резултати се најдени и во трудот на Maria-Teresa Gervasi и Roberto Romero ²⁹ каде статистичката сигнификантност била значајна ($p < 0.001$). Во овој труд статистичката анализа потврди разлика, но таа не е сигнификантна во бројот на претходни термински породувања меѓу двете групи испитанички ($p=0.57$).

- Начин на завршување на раѓањето

Двете групи испитанички сигнификантно се разликуваа во однос на начинот на породување ($p<0.0001$). Вагинално породување беше почесто кај пациентките породени во термин – 75% (96) наспроти 45% (9) кај тие кои се породиле предвремено спонтано. По оперативен пат односно со царски рез предвремено се породиле 55% (11) и 25% (32) пациентки породени оперативно со царски рез во термин.

Одлуката околу начинот на завршување на предвремените породувања сеуште претставува проблем. Тоа се должи на фактот дека царскиот рез кај предвремените раѓања може да го намали ризикот од фетална или неонатална смрт, но овој метод пак може да го зголеми мајчиниот морбидитет. Во повеќе трудови испитуван е бенефитот на елективниот царски рез кај предвременото породување и бенефитот од спонтаното предвремено породување. Новороденчињата кај тие родени со елективен царски рез, помалку развивале респираторен дистрес синдром (РДС) и да имаат уреден рН вредност на крвта по породување⁶⁷. Во нашата студија овие параметри не се следени.

- Родилна тежина и висина

Гестациската недела на породување има сигнификантно влијание врз родилната тежина на новородените ($p<0.0001$). На раѓање сигнификантно пониска телесна тежина имаа предвремено родените новороденчиња. Просечната родилна тежина на новороденчињата во групата на предвремено породени мајки беше 2458.5 ± 590 грама со средната родилна тежина од 2775 грама.

Просечната родилна тежина на новороденчињата од термински породени мајки беше 3464.45 ± 278.7 грама, со средна родилна тежина 3430 грама.

И родилната висина на новороденчињата сигнификантно се разликуваше меѓу двете групи испитанички ($p < 0.0001$). Значајно помала родилна висина беше измерена кај предвремено родените новороденчиња односно 46.9 ± 2.9 см, со средна вредност од 48 см споредено со тие родени во термин односно 50.3 ± 3.9 см, и средна вредност 51 см.

Овие резултати се сосема очекувани и се репортирани во сите други трудови бидејќи многу е јасно дека плодот расте со пораст на гестациската недела односно расте неговата тежина и должина^{61,62}.

- APGAR скор

Оценување по APGAR е едноставна метода за брза проценка на состојбата на новороденчето веднаш по породувањето. Овој тест е воведен од анестезиологот Вирџинија Апгар. Резултатот од Апгар-тестот (т.н. Апгар скор) е одреден преку оценување на новороденото преку пет критериуми на скала од нула до два, а потоа со сумирање на добиените пет вредности. Резултатот може да биде од 0 до 10. Почетните букви од критериумите, на англиски јазик, го даваат името APGAR: (Appearance: изглед или боја на кожата, Pulse: пулс, Grimace: гримаса или рефлексна раздразливост, Activity: активност или мускулен тонус, Respiration: респирации односно дишење). На бебињата со збир меѓу 4 и 6 им е потребна реанимација, која најчесто вклучува вшмукување на содржината од дишните патишта и примена на кислород. На тие со збир помал од 4 им се неопходни подрастични акции за спасување на животот⁶⁹.

Во нашата студија согласно резултатите, гестациската недела на породување имаше сигнификантно влијание врз вредноста на APGAR скор во првата минута по раѓањето ($p < 0.001$). Пониски вредности на овој параметар беа регистрирани кај предвремено родени новороденчиња. Едно новородено во групата предвремено родени имаше вредност на APGAR скор во 1-ва минута 6, 30% (6) имаа APGAR скор 7, а 65% (13) новороденчиња во оваа група веднаш по раѓање имаа скор 8. Во групата термински родени, 2.4% (3) новороденчиња

имаа APGAR скор 7, 90.5% (114) имаа вредност 8, а кај 7.1% (9) новороденчиња родени во термин вредноста на APGAR скорот по раѓање беше 9. Просечниот APGAR скор регистриран во 1-ва минута по раѓање имаше вредност од 7.6 ± 0.6 во групата предвремено родени новороденчиња, а 8.05 ± 0.3 во групата термински родени; половина предвремено родени новороденчиња имаа APGAR скор понизок од 7, а половина новороденчиња родени во термин имаа понизок од 8. За $p=0.007$ се потврди статистички сигнификантна разлика меѓу двете групи новородени во однос на средната вредност на APGAR скор прва минута по раѓање.

Во 5-та минута по раѓање, APGAR скор 7 беше регистриран кај едно новородено од групата предвремено родени, APGAR скор 8 имаа 40% (8) предвремено родени и 6.35% (8) термински родени, APGAR скор 9 имаа 55% (11) предвремено родени и 88.1% (111) термински родени новороденчиња, 5.6% (7) новороденчиња родени во термин имаа 10 APGAR скор во 5-та минута по раѓањето. Овие опишани разлики во вредноста на APGAR скор регистриран 5-та минута по раѓање кај двете групи новороденчиња и статистички се потврдија како сигнификантни односно значајни ($p < 0.001$). За $p=0.0026$ се потврди статистички сигнификантна разлика меѓу двете групи новородени во однос на средната вредност на APGAR скор и во 5-та минута по раѓање. Просечниот APGAR скор регистриран во 5-та минута по раѓање имаше вредност од 8.5 ± 0.6 во групата предвремено родени новороденчиња, а 8.99 ± 0.35 во групата термински родени; половина предвремено родени новороденчиња имаа APGAR скор понизок од 8, а половина новороденчиња родени во термин имаа понизок од 9.

Сите овие резултати се сосема очекувани при тоа што знаеме дека предвремено родените новороденчиња имаат полош неонатален исход, а со тоа и понизок APGAR скор^{68,69}.

7.2 Должина на грлото на матката

Трансвагиналната сонографска проценка на грлото на матката веќе долго време се користи како ефективна алатка за предвидување на предвременото породување. Неодамнешен систематски преглед на клинички

упатства за превенцијата на предвременото породување го посочи овој метод на скрининг како доста значаен⁷⁰. Општо земено, должината на грлото на матката во вториот триместар се смета за кратка доколку нејзината вредност е помала од 25 мм, што би одговарала на 10^{та} перцентила во оваа гестациска возраст⁷¹. Сепак, исто така, јасно е и дека постои континуитет на ризик поврзан со должината на грлото на матката и фиксните прагови не треба да ја ограничуваат неговата клиничка корисност. Колку е пократко грлото на матката толку е поголем ризикот. Скратена должина на грлото на матката во второто тримесечје е еден од најсилните фактори на ризик за спонтано предвременно раѓање^{71,72}. Во една проспективна слепа опсервациска студија покажано е дека дијагностицирање на скратено грло на матката во вториот триместар, кај пациентки кои имаат историја на претходни предвремени породувања, го појачува и потврдува овој ризик за 3,3-пати⁷¹, за настанување на повторно спонтано предвременно раѓање. Покрај тоа, сериски скрининг на должината на грлото на матката од неколку мерења до 24 г.н. значително го подобрува предвидувањето за предвременно раѓање во однос на изолирано мерење на неговата должина⁷³.

Должината на грлото на матката физиолошки се скратува со зголемување на гестациската недела па така што колку порано се дијагностицира кротење на грлото на матката толку е поверојатно настанувањето на предвременно раѓање⁷⁴. За жал, метаанализите за скринингот на должината на грлото на матката се ограничени поради разликите во гестациската недела во која тој се правел, различните пресечни вредности (cut-off) на цервикална должина (кои се движат од 15 до 30 мм) и дефинирани групи гестациска возраст на предвременно породување кое не може да се споредува⁷⁵. Покрај тоа, скринингот на должината на грлото на матката зависи и од стручноста на изведувачот, при што докажано е дека дури > 25% од мерењата може да не ги исполнуваат стандардните барања.⁷⁶ Исто така еден од конфликтните докази претставува и одредувањето на најповолното време односно гестациска возраст за мерења на должината на грлото на матката⁷⁷, иако како што напоменавме погоре најдобро е оваа должина да се мери сериски односно неколкупати за да може да добие посилна предвидлива вредност⁷⁸.

Универзално мерење на должината на грлото на матката кај сите пациентки е воведено од поединечни скринери, но сепак останува прашањето околу неговото клиничко значење и оправданоста на трошокот направен кај пациентките кои не спаѓаат во ризична група^{79,80,81,82}. Ова се рефлектира на неодамнешните издадени клинички упатства и насоки на постапување при предвремено породување и го смета универзалното мерење на должината на грлото на матката како неефективно⁷⁰.

Во оваа студија грлото на матката имаше несигнификантно пократка просечна должина кај пациентките предвреме породени наспроти тие породени во термин (30.7 ± 2.7 vs 32.12 ± 3.8 ; $p=0.11$). Должината на грлото на матката беше измерена пократка почесто кај пациентките породени пред 37-ма гестациска недела – 60% (12) наспроти 40.6% (52). Но, разликата меѓу двете групи во однос на должината на грлото на матка анализирана до и подолга од 25 мм не беше доволна за статистичка сигнификантност ($p=0.1$).

7.3 Микробиолошко испитување на вагинални и цервикални брисеви

Интраутерината инфекција претставува една од најзначајните ризик фактори за предвременото породување и компликации во текот на бременоста. Микроорганизмите можат да достигнат до амнионската празнина и до фетусот преку следниве патишта: асцендирачки од вагината преку грлото на матката, по пат на хематогена дисеминација преку плацентата - трансплацентарна инфекција, ретроградно расејување од перитонеалната празнина преку фалопиевите туби и асцендентно за време на инвазивни интраутерини процедури во текот на бременоста.

Во повеќето студии докажано е дека интраутерината средина е стерилна и во неа нема присуство на микроорганизми⁸³. Редовниот скрининг за микробиолошко испитување на вагинални и цервикални брисеви е вклучен во упатствата и препораките во нашата земја, на крајот на првото тримесечје. Во повеќето студии хипотезите покажале дека овој скрининг и третман врз нив ја намалува стапката на предвремено породување⁸⁴. Најчестите микроорганизмите поврзани со предвременото породување се: *Treponema pallidum*, *Neisseria gonorrhoeae*, group B streptococcus (GBS), *Ureaplasma*

urealyticum, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Gardnerella vaginalis*^{85,86}.

Во нашата студија кај сите испитанички беа направени микробиолошки испитувања на вагинални и цервикални брисеви. Примероци беа земени од 95% (19) пациентки од групата предвремено породени и од 97.7% (125) од групата породени во термин. Со позитивен наод беа 78.95% (15) од брисевите земени од пациентки предвреме породени и 16.8% (21) од термински породени пациентки односно почесто инфекција беше дијагностицирана кај пациентки породени пред 37-ма гестациска недела, што се потврди и статистички како сигнификантно ($p < 0.0001$).

Во однос на изолираните микроорганизми, резултатите покажаа присуство на *Gardnerella vaginalis* во 21% (4) од пациентките предвреме породени и 3.2% (4) позитивни примероци од пациентки термински породени. *Ureaplasma urealyticum* беше изолирана во 10.5% (2) позитивни брисеви од пациентки предвремено породени и 4% (5) позитивни брисеви од пациентки термински породени. И во двете групи најчесто беше изолирана *Candida albicans*, значајно почесто кај пациентките породени пред 37-ма гестациска недела односно 47.4% (9) и 9.6% (12) пациентки консеквентно. Во слични истражувања добиени се слични резултати на нашите при што се докажува значењето на овој метод во детектирање зголемен ризик за настанување предвремено породување⁸⁷.

7.4 Број на леукоцити во амнионската течност

Раната дијагностика на инфекција во интраамнионската течност останува сеуште проблем. Тој треба да се дијагностицира кога тој сеуште не е клинички видлив. Постојат доста различности и контраверзности во литературата околу значењето на присуството на леукоцити во амнионската течност⁸⁸. Romero и сор⁸⁹, пронашле дека присуството на леукоцитите во амнионската течност е сензитивен, брз, ефективен и евтин начин на дијагностицирање микробна инвазија во амнионската празнина. Сепак Garite и Freeman⁹⁰ докажале дека присуство или отсуство на леукоцити во амнионската течност не колерира со ризикот на пациентката за предвремено породување. Не постоела индикативна

разлика во бројот на леукоцитите, во амнионската течност, чиј примерок бил земен за време на медицински индицирана амниоцентеза за дијагностицирање генетски нарушувања, кај пациентките кои потоа се породиле во термин и кај тие кои се породиле предвремено. EUROPOP⁹¹ студијата покажала зголемување во бројот на леукоцитите во амнионската течност за време на амниоцентезата во второто тримесечје направена по медицинска индикација во групата на предвремено породени пациентки во однос на групата породени во термин. Тие сметаат дека ова се должи на преегзистирачки проблем односно тригер кој започнува дури во раното второ тримесечје, а продолжува понатаму се до породувањето на трудницата. Покачувањето на леукоцитите би можело да доведе до инфламаторен процес со зголемување на продукција на цитокините, а со тоа е металопротеиназите и простагладнините кои пак би ги активирале простагландините, а тие би предизвикале настанување утерини контракции и несакано предвремено породување. Сепак комбинирањето на повеќе биомаркери би довело до поголема предиктивна моќ при предвидување на предвременото породување.

Нашите резултати од истражувањето покажаа сигнификантно различен број леукоцити во амнионската течност ($p=0.02$). Наод на леукоцити во амнионска течност имаа 57.9% (11) пациентки породени пред 37-ма гестациска недела, и кај 31.25% (128) пациентки породени по 37 гестациски недели. Значајно поголем број леукоцити беа изброени во амнионската течност кај пациентките предвреме породени односно кај повеќе од половина пациентки од оваа група беа најдени повеќе од 5×10^9 /Л леукоцити, наспроти 2×10^9 /Л кај пациентките термински породени.

7.5 Ниво на глукоза во амнионска течност

Претходно изработени студии каде што се испитувала глукоза во амнионска течност јасно покажале дека намаленото ниво на глукоза во амнионската течност е поврзано со постоење на инфламаторна реакција во амнионската течност^{92,93}. Студиите индицираат дека намаленото ниво на глукоза во амнионската течност има силна предиктивна вредност во предвидување на предвременото породување поддржувајќи ја хипотезата дека интраамнионската инфекција и инфламација е причина за предвременото породување.

Нивото на глукоза во амнионската течност се намалува од 17 г.н. на бременоста па се до терминот на породување. Пик во средната вредност на глукозата настанува во 16 г.н. со што потоа концентрацијата се намалува со зголемувањето на гестациската возраст. Поврзаноста на намалено ниво на глукоза во амнионската течност некои автори го сметаат за многу важен и релевантен знак за настанување интраамнионска инфекција, а потоа и предвремено породување колку и боењето на амнионската течност по Gram⁹². Со праг од 0,158ммол/Л на нивото на глукоза Romero и сор⁹³. пронашле сензитивност од 87 %, споредбено со 65% на боењето по Gram. Додека Kirshon и Rosenfeld⁹⁴ објавиле 100 % сензитивност споредбено со 65 % за боењето по Gram.

Додека нивото на глукоза во амнионската течност се чини дека служи како добар показател на присуство на интраамнионска инфекција во текот на третото тримесечје односно во перипарталниот период сепак во раното второ тримесечје.

Нејзината вредност како дијгностичка алатка е неизвесна. Затоа се користи 25–та и 75–та вредност на перцентила, за предвидување на предвремено породување во второто тримесечје^{95,96}.

Во нашата студија во амнионската течност која беше земена во раното второ тримесечје, беа измерени сигнификантно различни вредности на глукоза, а во зависност од гестациската недела на породување ($p=0.038$). Кај пациентките породени предвремено овие вредности беа значајно пониски. Средната концентрација на гликоза во амнионската течност во групата предвремено породени беше 1.9 ммол/Л, а 2.3ммол/Л во групата термински породени трудници.

7.6 Цитокини во АТ

Идентификацијата на специфичен имунолошки медијатор и нивната концентрација во амнионската течност има привлечено мошне големо внимание како потенцијален извор за дијагностика и терапија на оваа проблематика. Ова поле сеуште останува недоистражено бидејќи постојат многу различности во испитувањата во разни студии.

Составот на амнионската течност се менува за време на бременоста, што било испитано од Ungerwood и сор⁹⁷. Соодветно на тоа, АТ го менува милјето за време на бременоста и е под влијание на различни фактори, како што се: гестациската недела, утерината перфузија и многу други. Особено во втората половина на бременоста составот на АТ се чини дека се менува⁹⁸. Факторите кои влијаат врз вредноста на цитокините биле испитувани во минатото и се опишани бројни варијабли, како што се: етничка припадност, заболувања на фетусот, мали за гестациска возраст и индекс на телесна маса^{99,100,101}. Особено разликите во начинот на изразување на цитокините во однос на етничката припадност веќе се опишани во литературата и достапните податоци се чини дека се поконзистентни кога се споредуваат со достапните податоци во врска со полот на фетусот или гестациската недела. Податоците недостасуваат за видови на ниво на цитокин, како резултат на гестациска недела, фетален пол или возраста на мајките, а неодамна се пријавени само неколку цитокини. Bamberg и сор ги испитал IL-6, IL-8 и TNF- α во амнионска течност во вториот триместар кај бремености со нормален исход. Концентрациите на цитокините во оваа студија се поврзани со гестациската недела, полот на плодот и паритетот¹⁰². Во оваа студија, АС била спроведена помеѓу 15 + 0 и 20 + 6 г.н. од бременоста, но не се детектирала корелација помеѓу нивото на цитокини со паритетот или полот на фетусот што ги потенцира и нашите резултати кои се слични. Покрај тоа, во ни една студија, како и во оваа не е докажана покаченост на цитокините и корелација помеѓу полот на фетусот и возраста на мајките.

7.6.1 TNF- α

TNF- α е воспалителен цитокин што се произведува во амнионската течност и кој игра улога во иницирање на предвременото породување. Неговата концентрација во амнионската течност, исто така, значително се зголемува за време на породувањето^{103,104}. Присуството на интраутерина инфекција, исто така, го поттикнува производство на TNF- α во амнионската течност и затоа TNF- α е поврзана во патологијата на инфекција поврзана со предвременото породување¹⁰⁵. TNF- α го регулира делувањето на рецепторите на IL-1 во амнионските клетки. Исто така, докажано е дека го стимулира

производството на IL-6 и IL-8. TNF- α е вклучен во транскриптивно активирање на простагландин синтаза која доведува до зголемено производство на PGE2 во амнионската течност за време на предвременото породување каде постои инфекција. Дејствата на TNF- α се посредуваат преку мембрански рецептори 1 (TNFR1) и 2 (TNFR2). Активирање на TNFR1 го активира производството на MMP (матрикс метало протеази) додека TNFR2 иницира проинфламаторен имунолошки одговор. Студиите покажале сигнификантна поврзаност во концентрациите на TNF- α (и IL-6) со ППОМ (предвремено прскање на околу плодовите обвивки) и постоење на хориоамнионит¹⁰⁶.

Во студијата каде што се мерени концентрациите на TNF- α во амнионската течност за време на медицински индицирана амниоцентеза во второто тримесечје, покажале сигнификантно зголемени вредности на овој цитокин кај тие пациентки кои потоа се породиле предремено односно пред 37 г.н. споредувано со тие кои се породиле во термин. Истата оваа студија заклучила дека концентрациите на TNF- α (и/или IL-6) во амнионската течност во второто тримесечје може да ги идентификува трудниците кои се на ризик за настанување на хориоамнионит кој би можел да доведе до предремено породување¹⁰⁷.

Во нашата студија резултатите беа сосема слични на тие добиени во другите студии. Пациентките предремено и термински породени имаа сигнификантно различни концентрации на TNF – α во амнионската течност ($p=0.0013$). Во групата породени пред 37-ма гестациска недела беа измерени значајно повисоки TNF- α вредности. Овој инфламаторен маркер во амнионската течност имаше просечна вредност од 12.04 ± 26.6 pg/ml кај пациентките предремено породени, а 4.04 ± 2.1 pg/ml кај пациентките породени во термин; средните концентрации на TNF – α во двете групи пациентки изнесуваа 6.67 и 3.96 pg/ml консеквентно. Овие резултати јасно ја покажуваат важноста на овој маркер во одредувањето и проценувањето на ризикот за настанување на предремено породување.

Резултатите од ROC анализата за предикција на предремено породување со TNF вредностите, покажаа дека големината на површината под ROC кривата има вредност од 0.724 (95% CI 0.585-0.864), со сензитивност од 65% и специфичност од 70.5%. Ова сугерира на заклучок дека TNF во

амнионската течност има добра дискриминаторска способност во одделување на трудниците со предвремено и терминско породување.

7.6.2 IL-6

Интерлеукин-6 (IL-6) се произведува од моноцити и макрофаги и е еден од првите цитокини што се ослободува како одговор на одреден инфективен стимул. Тој е главен посредник во одговорот на инфламација во акутната фаза, ги активира Б-клетките за да се разликуваат во правење антитела, плазма клетки и посредува во диференцијацијата на зрели Т-клетки до цитотоксични Т-клетки. Главниот извор на IL-6 во амнионската течност е самиот амнион. Веќе е добро утврдено дека концентрациите на IL-6 во амнионската течност е покачен кај трудници каде се јавува предвремено породување, во споредба со контролите кои се породиле во термин¹⁰⁸. Во ревијалниот труд на Wei SQ и Fraser W јасно е докажано дека покачени нивоа на IL-6 во амнионската течност кај асимптоматски пациентки во второто тримесечје е силно поврзано со предвремено породување¹⁰⁹.

Постојат јасни докази кои укажуваат на тоа дека IL-6 во амнионската течност е еден од најдобрите и најсилните предвидувачи на предвремено раѓање. Зголемена концентрација на IL-6 во амнионската течност е маркер на хорионско и амнионско воспаление поврзано со инфекција во амнионската течност и евентуално настанување на предвремено породување¹¹⁰. Нивоа на IL-6 (и IL-8 и INF- γ) во амнионската течност, исто така, се покажа дека се покачени кај овие пациентки.

Овие наоди укажуваат дека IL-6 игра важна улога и за време на предвременото породување дури и кај недефинираните причини за негово настанување, па дури и при отсуство на знак за инфекција. Во една студија, кај пациентки со инкомпетентен цервикс, по ставањето на церклаж, тие со зголемени нивоа на IL-6 во амнионската течност се породиле за средно време од 2 недели¹¹¹.

Покачено ниво на IL-6 во амнионската течност настанува преку различни имунолошки механизми инволвирани во иницирање на предвременото породување. Неговото покачување најверојатно се должи на зголемување на

имунолошкиот одговор, а се со цел заштита на фетусот односно активирање на оската за започнување контракции и породување, а може да биде алатка за дијагностицирање на хориоамнионит.

Интересен факт од направени генестки испитувања во бременост, покажале дека SNPs на генот на IL-6 се поврзани со зголемен ризик од предвремено раѓање. Студијата покажала дека the C-174G полиморфизам (G алел) ја намалува активноста на промоторот и на тој начин и ризикот од предвремено породување, со тоа G / G хомозиготот пак го зголемува ризикот од предвремено породување¹¹².

Резултатите од нашата студија покажаа сигнификантно различни вредности на IL-6 инфламаторниот медијатор во амнионската течност, а во зависност од времето на породување, пред и по 37-ма гестациска недела ($p < 0.0001$). Вредностите на овој параметар беа значајно повисоки во амнионската течност земена од пациентки кои се породиле предвреме.

Во групата пациентки породени предвреме, во амнионската течност се измерени просечни вредности на IL-6 од 2661.34 ± 2452.9 pg/ml, а средни вредности од 2186 pg/ml. Во групата пациентки породени во термин, просечните вредности изнесуваа 380.51 ± 493.9 pg/ml, а средните вредности 164 pg/ml.

Концентрациите на IL-6 во амнионската течност сигнификантно се разликуваа кај предвреме и термински породените пациентки, и при нивно анализирање како нормални и зголемени односно вредности пониски и повисоки од 700 pg/ml ($p < 0.0001$)¹¹³.

Нормални вредности на овој воспалителен параметар беа измерени кај 25% (5) предвремено породени и 82.8% (106) термински породени пациентки; зголемени вредности беа измерени кај 75% (15) предвремено породени и 17.2% (22) термински породени пациентки.

Во трудот на Maria Gervasi и Roberto Romero²⁹, каде на 847 трудници минале низ медицински индицирана амниоцентеза во почетокот на второто тримесечје, и каде при оваа интервенција исто се земени дополнителни 4- 5 мл. амнионска течност за истражување на IL-6. Концентрацијата на IL-6 била значително покачена кај тие пациентки кај кој настапило предвремено

породување односно таа била со средна вредност од 2052 pg/mL отколку кај тие кои се породиле во термин каде средната вредност била 414 pg/mL. Овие резултати се слични на добиените во нашата студија, со тоа што тука бројот на пациентки е порепрезентативен, а со тоа и резултатите се поегзактни. Со ова докажавме дека одредена фракција на пациентки кои поминуваат низ амниоцентеза во раното второ тримесечје, имаа субклинички инфламаторен процес, дефиниран со зголемено ниво на IL-6¹¹⁴.

Во нашата студија докажавме дека концентрациите на IL-6 во амнионската течност повисоки од 700 pg/ml, го зголемуваат ризикот за предвременно породување за околу 3-пати, компарирано со концентрации пониски од 700 pg/ml (RR=3.232, 95% CI 2.911-5.425).

Резултатите од ROC анализата за предикција на предвременно породување со помош на IL-6 маркерот, покажаа дека големината на површината под ROC кривата има вредност од 0.789 (95% CI 0.672 – 0.906), со сензитивност од 75% (15/20), специфичност 82.8% (106/128), позитивна предиктивна вредност 40.5% (15/37) и негативна предиктивна вредност од 95% (106/111).

Овие резултати сугерираат на заклучок дека IL-6 во амнионската течност има добра дискриминаторска способност во разграничување на бремените жени со предвременно и терминско породување.

Бремените жени предвременно породени имаат 78.9% поголема веројатност од бремените жени породени во термин да имаат амнионски концентрации на IL-6 повисоки од 700 pg/ml.

7.6.3 IL-8

Предвременото породување е дефинирано како состојба во која има постоење на инфламација. Исто така, докажано е во повеќе студии дека хемокилот IL-8 со нова терминологија CXCL-8, е покачен во амнионската течност во бремености кои почесто завршуваат предвременно¹¹⁵. Исто така, докажано е дека при постоење на микробна инвазија во амнионската течност доаѓа до зголемени концентрации на IL-8 кај неасимптоматски пациентки во второто тримесечје. Главната хипотеза е дека бактериите асцендираат од

вагината, преку цервиксот па преку хориоамнионските мембрани до амнионската течност па до самиот фетус. Вака настаната микробна инвазија би довела до настанување на фетален инфламаторен одговор на оваа ситуација. Во две студии каде е истражувана поврзаноста на зголемените вредности на IL-8 земени во второто тримесечје при медицински индицирана амниоцентеза, повеќето предвремено породени пациентки имале зголемени вредности на IL-8 средна вредност од 3.200 pg/ml наспроти кај терминските породени пациентки со средна вредност од 280pg/ml¹¹⁶.

Во нашата студија пациентките предвреме породени имаа сигнификантно повисоки вредности на IL-8 во амнионската течност, споредено со термински породените пациентки ($p < 0.0001$). Просечните концентрации на овој параметар во амнионската течност во групите породени пред 37-ма и по 37-ма гестациска недела беа 1585.7 ± 834.7 и 360.65 ± 459.3 pg/ml, консеквентно; средните концентрации беа 1598 и 198 pg/ml, консеквентно.

Нормални вредности на инфламаторниот маркер IL-8 во амнионската течност беа измерени кај 15% (3) предвремено породени и 82.8% (106) термински породени пациентки, зголемени вредности, повисоки од 606 pg/ml беа измерени кај 85% (17) предвремено породени и 17.2% (2) термински породени пациентки.

Овие опишани разлики во дистрибуцијата на вредностите на IL-8 во амнионската течност пониски и повисоки од 606 pg/ml меѓу групите пациентки породени предвремено и породени во термин и статистички се потврдија како сигнификантни односно значајни, за $p < 0.0001$. Пациентките родени пред термин значајно почесто од термински породените имаа зголемени вредности на IL-8 во амнионската течност.

Интересен факт е дека во една студија направена кај пациентки со продолжена бременост каде се мереле концентрациите на IL-8 во амнионската течност, се нашле резултати каде неговите концентрации биле екстремно ниски. Од ова би можело да се заклучи дека овој хемокин односно неговите вредности се поврзани со индукција на породувањето. Па така зголемени нивоа се поврзани со предвремено породување, а намалени вредности со продолжена бременост¹¹⁷.

Во нашата студија јасно се покажа дека концентрациите на IL-8 во амнионската течност повисоки од 606 pg/ml, го зголемуваат ризикот за предвремено породување за околу 3-пати, компарирано со концентрации пониски од 606 pg/ml (RR=3.241, 95% CI 1.121-9.375).

Резултатите од ROC анализата за предикција на предвремено породување со помош на IL-8 маркерот, покажаа дека големината на површината под ROC кривата има вредност од 0.839 (95% CI 0.741 – 0.937), со сензитивност од 85% (17/20), специфичност 82.8% (106/128), позитивна предиктивна вредност 43.6% (17/39) и негативна предиктивна вредност од 97.2% (106/109).

Овие резултатите сугерираат на заклучок дека IL-8 во амнионската течност претставува многу добар дискриминатор во разграничување на бремените жени со предвремено и терминско породување.

Трудниците предвремено породени имаат 83.9% поголема веројатност од трудниците породени во термин да имаат амнионски концентрации на IL-8 повисоки од 606 pg/ml.

7.6.4 IL-1 β

IL-1 е 17 kDa протеин од 159 аминокиселини во должина, што главно се произведува од моноцити, но исто така, и од макрофаги и периферни неутрофилни гранулоцити. Неговата β форма е доминантна во човечките ткива, тој делува како ендоген пироген и ја зголемува експресијата на молекулите за адхезија на клетки во ендотелот. IL-1 β се чини да има доминантна улога во врска со појавата на предвремените контракции на матката во бременоста и може да се користи како дијагностички индикатор за присуство на инфективен процес¹¹⁸. Во испитувањата направени на гравидни мајмуни, инфузија на IL-1 β во амнионската течност стимулирала најинтензивни утерини контракции во споредба со другите цитокини и насилно индуцирал односно предизвикал предвремено породување во споредба со другите цитокини¹¹⁹. Овој начин на индуцирано предвремено породување со интра амнионска инфузија на IL-1 β , лесно можел да се инхибира со интравенозна администрација на dexamethasone и IL-10, и индометацин орално кај мајката. Авторите сугерираат

дека овие токолитици можат да бидат корисни додатоци во третманот на предвременото породување кое е поврзано со воспаление или инфекција¹²⁰. Нивната последна студија покажа дека присуство на липополисахарид (ЛПС) во амнионската течност предизвикува производство на IL-1 β (и IL-6, TNF- α и IL-8) од страна на кожата на фетусот. Авторите сугерираат дека кожата на фетусот делува како важен посредник на феталниот воспалителен одговор и учесник во започнувањето на предвременото породување¹²¹.

Како природен антагонист на провоспалителните процеси, цитокинет IL-1 β , е посочен во улога на антиинфламаторен агенс во бременоста кој има функција на ублажување на потенцијално штетните ефекти за развој и одржување на фетусот и плацентата¹²².

Во нашата студија сите пациентки, и предремено и термински породени, имаа нормални вредности на IL-1 β во амнионската течност.

Во рамките на овие нормални вредности, пациентките предремено породени имаа сигнификантно повисоки вредности од пациентките породени во термин ($p=0.000004$). Во групата предремено породени просечните вредности на IL-1 β во амнионската течност беа 9.36 ± 14.6 pg/ml, средните вредности 4.49 pg/ml; во групата породени во термин, просечните вредности на IL-1 β во амнионската течност беа 2.11 ± 0.9 pg/ml, средните вредности 2.19 pg/ml.

Се чини дека овие резултати се должат на фактот дека овој цитокин се зголемува само при почетокот на породувањето па така и Figueroa и соp¹²³, добиле слични резултати, но кај трудници кој биле со почетни контракции или со присутна инфекција, а се породиле потоа во интервал од 2 недели, овој цитокин бил зголемен. Со тоа и станува јасно зошто се добиени овие резултати во нашата студија.

Резултатите во нашиот труд од ROC анализата за предикција на предремено породување со IL 1- β вредностите, покажаа дека големината на површината под ROC кривата има вредност од 0.797 (95% CI 0.667-0.927) со сензитивност од 70% и специфичност од 73.4%. Ова сугерира на заклучок дека IL 1- β во амнионската течност има добра дискриминаторска способност во одделување на бремените жени со предремено и терминско породување.

7.7 Комбинирани биомаркери

Аntenаталното предвидување на предвременото породување е од исклучителна важност за да се идентификуваат трудниците со поголем ризик од породување предвремено и да се испланира соодветен менаџмент за нив. Краткорочната токолиза, кортикостероиди и магнезиумот сулфат кои се администрираат кај мајки кои имаат клинички симптоми на заканувачко предвремено породување се покажало дека ги подобрува респираторните и невролошките перформанси на деца предвремено родени^{124,125}. Спротивно на тоа, антенаталната администрација на прогестерон кај асимптоматски жени со ризик од предвремено породување резултира во значително продолжување на бременоста и подобри перинатални исходи. Скратените димензии на грлото на матката при трансвагинален ултразвук се покажа дека е поврзано со зголемен ризик од предвремено породување особено кога се откриени кај асимптоматски жени при вршење на скринингот за аномалии на плодот во второто тримесечје^{126,127}.

И покрај ова, голем дел од трудниците кои имаат симптоми за предвремено породување сепак не се породуваат предвремено, што резултира во непотребни интервенции.

Голем број биомаркери кај трудниците се докажале дека се поврзани со предвремено породување и ризик од нивно настанување. Во неодамнешното минато во неколку ревијални трудови се обиделе да ја утврдат и дефинираат нивната улога во предвидување на предвременото породување. Ревиијалните трудови се фундаментални за здравствената заштита базирана на докази и обезбедуваат највисоко ниво на докази за понатамошно соодветно постапување. Сепак, големина на примерокот од ваквите прегледи, различностите во критериумите за вклучување во студиите, возраста на гестациската проценка и дефиницијата на исходите, исклучуваат сеопфатна проценка на нивната улога во предвидување на предвременото породување. Затоа, соодветно е да се сумираат доказите од повеќе истражувачки синтети за да се понуди значење за брз преглед на записите на оваа тема. Целта на ваквите студии вклучувајќи ја и нашата е да се обезбеди систематски ажуриран преглед на поврзаноста помеѓу биомаркерите на трудниците и предвременото породување^{128,129}.

Предвременото породување е силно поврзано со воспаление и инфекција и затоа големо внимание е насочено на утврдување на алтернативни биомаркери што би можеле да го идентификуваат раниот воспалителен процес што се јавува кај асимптоматски жени. IL-6, што е вообичаено поврзан со воспалителниот одговор на фетусот поврзан со зголемен ризик за предвременно породување е откриено дека е зголемен во второто тримесечје кај асимптоматските жени кои подоцна ќе се породат предвременно. Во прилог на ова, има неодамнешни податоци кои укажуваат дека проинфламаторните цитокини IL-1 β , IL-6, IL-8 и намаленото ниво на глукоза во амнионската течност во второто тримесечје корелираат со предвременото породување. Иако ветуваат, на овие тестови сепак ќе им треба валидација во поголеми студии и развој на одредени тестови специјализирани за брза проценка на овие пациентки за да можат овие биомаркери да бидат корисни во клиничката пракса¹³⁰.

Во нашата студија во групата на екстремно предвременно породени трудници (24-28 г.н.) беше регистрирана една пациентка. Оваа пациентка породена во 27,3 –та гестациска недела, беше на возраст од 32 години, без тешкотии и без придружни заболувања во оваа бременост. Со должина на грло на матка од 30 мм. Кај пациентката од вагиналните и цервикалните брисеви беа детектирани *Candida albicans* и *Ureaplasma urealyticum*. Вредностите на TNF-alpha, IL-6, IL-8 и IL-1beta во амнионската течност изнесуваа 8.47 pg/ml, 4945 pg/ml, 2297 pg/ml и 10.4 pg/ml, консеквентно. Кај оваа пациентка во амнионската течност беа измерени силно зголемени вредности на IL-6 и IL-8. Освен должината на грлото на матката сите други параметри односно нејзините биомаркери во комбинација ни фрлаат сомнеж дека можеби оваа пациентка би се породила предвременно и дека можеби се развива некој инфективен процес кој би можеле да го предвидиме, а можеби и да го спречиме.

Во групата на предвременно породени од 28 г.н. до 32 г.н. имаше вкупно три пациентки. Тие беа на возраст од 33, 35 и 32 години консеквентно. Две од овие три пациентки имаа скратено грло на матката, со должина од 22 и 25 см. Сите три пациентки имаа нормални вредности на TNF – alpha, а зголемени на IL-6, додека вредностите на IL-8 беа покачени кај две пациентки. Две пациентки имаа позитивен микробиолошки наод. И во оваа група при комбинирање на

клиничките, микробиолошките и амнионските биомаркери би можеле да добиеме сомнение дека можеби овие пациентки би се породиле предвремено, а со соодветен третман и терапија и можеби би го спречиле тоа или пак би го продолжиле до некоја гестациска недела каде плодот би бил по стабилен во надворешната средина.

Повеќето од предвремено породените пациентки во нашето истражување припаѓаа на групата доцно предвремено породени односно породени меѓу 32-ра и 36.6-та гестациска недела. Беа регистрирани вкупно 16 пациентки. Просечната возраст на овие пациентки беше 34.06 ± 4.8 години, должината на грлото на матката во просек – 30.87 ± 3.0 см. Кај 7 од 16 пациентки беше регистриран позитивен микробиолошки наод од цервикалните и вагиналните примероци. 10 пациентки имале претходни бремености и 10 имале претходно спонтани абортуси.

Просечната родилна тежина на новороденчињата беше 2673.12 ± 419.9 гр, поголем дел од нив со Апгар скор 8 во 1-ва минута и 9 во 5-та минута – 12/16 и 10/16 консеквентно.

Поголемиот дел од пациентките имаа зголемени вредности на IL-6 и IL-8 во амнионска течност односно 11/16 имаа покачен IL-6, а 14/16 пациентки имаа покачен IL-8. Ова повторно и во оваа група на пациенти значително ни го разјаснува значењето на овие биомаркери во раното предвидување на предвременото породување.

8. ЗАКЛУЧОК

1. Ова е прва студија во нашата држава од ваков тип која ја истражува поврзаноста помеѓу концентрациите на леукоцити, глукоза, IL-1 β , IL-6, IL-8 и TNF- α во амнионската течност во второто тримесечје кај асимптоматски пациентки и исходот од бременоста. Беше добиена поврзаност на концентрацијата на овие биомаркери и исходот од бременоста.
2. Уште поважно, беше идентификувано дека дел од пациентките кои беа подложени на амниоцентеза во второто тримесечје, (медицински индицирана за генетска дијагностика на плодот), имаа субклинички воспалителен процес, дефинирани со зголемување на концентрациите на леукоцити, IL-1, IL-6, IL-8 I TNF- α , а намалување на концентрациите на глукоза.
3. Нивоата на глукоза во амнионската течност во времето на медицински индицирана генетска амниоцентеза е помала кај трудници кај кои би настанало предвремено породување отколку кај тие трудници кои ќе се породат во термин. Кај пациентките породени предвреме овие вредности беа значајно пониски. Средната концентрација на гликоза во амнионската течност во групата предвреме породени беше 1.9 ммол/Л , а 2.3 ммол/Л во групата термински породени. Најголема придобивка од тестирање на амнионската течност за ниво на глукоза е што овој тест е брз, евтин и потребно е многу мала количина на амнионска течност за негово изведување. Резултатите се достапни за 15 минути од изведувањето на амниоцентезата.
4. Нивото на леукоцити во амнионската течност мерена во време на медицински индицирана генетска амниоцентеза покажаа сигнификантно различен број леукоцити во амнионската течност ($p=0.02$). Наод на леукоцити во амнионска течност имаа 57.9% (11) пациентки породени пред 37-ма гестациска недела, и кај 31.25% (128) пациентки породени по

37 гестациски недели. Значајно поголем број леукоцити беа изброени во амнионската течност кај пациентките предвреме породени односно кај повеќе од половина пациентки од оваа група беа најдени повеќе од 5×10^9 леукоцити наспроти 2×10^9 кај пациентките термински породени.

5. Боењето по Gram и амниокултурата на амнионската течност не даде ниту еден позитивен резултат односно сите наоди беа негативни кај сите 150 пациентки.
6. Нивоата на IL-1 β во амнионската течност земена при медицински индицирана генетска амниоцентеза во второто тримесечје кај асимптоматски пациентки, може да служи како добар предвидувачки маркер за настанување на предвремено породување. Иако во нашата студија сите концентрации IL-1 β беа во референтни вредности во амнионската течност, пациентките предвремено породени имаа сигнификантно повисоки вредности од пациентките породени во термин ($p=0.000004$). Предикција на предвремено породување со IL 1- β вредностите, покажаа дека големината на површината под ROC кривата има вредност од 0.797 (95% CI 0.667-0.927), со сензитивност од 70% и специфичност од 73.4%. Ова сугерира на заклучок дека IL 1- β во амнионската течност има добра способност во одделување на бремените жени со предвремено и терминско породување.
7. Концентрациите на IL-6 во амнионската течност повисоки од 700 pg/ml, го зголемуваат ризикот за предвремено породување за околу 3-пати, компарирано со концентрации пониски од 700 pg/ml (RR=3.232, 95% CI 2.911-5.425).
Предикција на предвремено породување со помош на IL-6 маркерот, покажаа дека големината на површината под ROC кривата има вредност од 0.789 (95% CI 0.672 – 0.906), со сензитивност од 75% (15/20), специфичност 82.8% (106/128), позитивна предиктивна вредност 40.5% (15/37) и негативна предиктивна вредност од 95% (106/111). Овие резултати сугерираат на заклучок дека IL-6 во амнионската течност има добра дискриминаторска способност во разграничување на бремените

жени со предвременно и терминско породување. Трудниците предвременно породени имаат 78.9% поголема веројатност да имаат амнионски концентрации на IL-6 повисоки од 700 pg/ml, отколку тие породени во термин.

8. Концентрациите на IL-8 во амнионската течност повисоки од 606 pg/ml, го зголемуваат ризикот за предвременно породување за околу 3-пати, компарирано со концентрации пониски од 606 pg/ml (RR=3.241, 95% CI 1.121-9.375).

Резултатите од ROC анализата за предикција на предвременно породување со помош на IL-8 маркерот, покажаа дека големината на површината под ROC кривата има вредност од 0.839 (95% CI 0.741 – 0.937), со сензитивност од 85% (17/20), специфичност 82.8% (106/128), позитивна предиктивна вредност 43.6% (17/39) и негативна предиктивна вредност од 97.2% (106/109).

Овие резултатите сугерираат на заклучок дека IL-8 во амнионската течност претставува многу добар дискриминатор во разграничување на трудниците со предвременно и терминско породување.

Трудниците предвременно породени имаат 83.9% поголема веројатност од трудниците породени во термин да имаат амнионски концентрации на IL-8 повисоки од 606 pg/ml.

9. Пациентките предвременно и термински породени имаа сигнификантно различни концентрации на TNF – α во амнионската течност ($p=0.0013$). Пациентките породени пред 37-ма гестациска недела имаа значајно повисоки TNF– α вредности. Средните концентрации на TNF – α во двете групи пациентки изнесуваа 6.67 и 3.96 pg/ml консеквентно. Овие резултати јасно ја покажуваат важноста на овој маркер во одредувањето и проценувањето на ризикот за настанување на предвременно породување.

Резултатите од ROC анализата за предикција на предвременно породување со TNF вредностите, покажаа дека големината на површината под ROC кривата има вредност од 0.724 (95% CI 0.585-0.864), со сензитивност од 65% и специфичност од 70.5%. Ова сугерира

на заклучок дека TNF во амнионската течност има добра способност во одделување на трудниците со предвремено и терминско породување.

10. Грлото на матката имаше несигнификантно пократка просечна должина кај пациентките предвреме породени наспроти тие породени во термин. Должина на грлото на матка беше измерена пократка почесто кај пациентките породени пред 37-ма гестациска недела – 60% (12) наспроти 40.6% (52). Но, разликата меѓу двете групи во однос на должината на грлото на матка анализирана до и подолга од 25мм не беше доволна за статистичка сигнификантност ($p=0.1$).

11. Кај сите испитанички беа направени микробиолошки испитувања на вагинални и цервикални брисеви. Позитивни беа 78.95% (15) примероци земени од пациентки предвремено породени и 16.8% (21) од термински породени пациентки односно почесто инфекција беше дијагностицирана кај пациентки породени пред 37-ма гестациска недела, што се потврди и статистички како сигнификантно ($p<0.0001$).

9. КЛИНИЧКА ПЕРСПЕКТИВА И ИМПЛИКАЦИИ ЗА ИДНИ ИСТРАЖУВАЊА

Потребни се дополнителни студии направени на поголем обем на пациентки во нашата држава за да се утврди краткорочно и долгорочно клиничко значење за мајката и новороденчето на ваквите резултати и покачувања на биомаркерите во однос на предвременото породување.

Исто така, потребна е изработка на алгоритам приспособен на нашата популација по кој би се воделе во одредување на ризикот на пациентките за предвременно породување.

10. РЕФЕРЕНЦИ

1. Malamitsi-Puchner A, Briana DD. Ancient Greek view of perinatal risk issues: from myth to reality. *J Pediatr Neonat Individual Med.* 2017;6(2):e060223.
2. Tsoucalas G, Sgantzos M (2017) Calculating Pregnancy's Duration in Ancient Greece. Gestational, or Fetal Age? *Obstet Gynecol Int J* 6(3): 002/ogij. 2017.06.00209
3. Dasen V. Childbirth and Infancy in Greek and Roman Antiquity. Chapter 18. In: Rawson B (Ed.) *Blackwell Companion to Families in the Greek and Roman Worlds.* Oxford: Blackwell, 2011
4. Hippocrates. On the seven Month's Foetus. *Oxford Classical Texts and BSB B.G. Teubner Verlagsgesellschaft. Ancient Greek Literature 102, "The Greeks"*, 1st ed. Athens: Kaktos, 1993, pp. 78-9
5. Hippocrates. On the eight Month's Foetus. *Oxford Classical Texts and BSB B.G. Teubner Verlagsgesellschaft. Ancient Greek Literature 102, "The Greeks"*, 1st ed. Athens: Kaktos, 1993, pp.
6. Apollodorus. *Bibliotheca.* Chapter 2, Section 53, Line 8.
7. Reiss R, Ash AD. The eight-month fetus: Classical sources for a modern superstition. *Obstet Gynecol.* 1988;71:270-3.
8. Malamitsi-Puchner A. Preterm birth in ancient Greece: a synopsis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017;30(2):141-3
9. Tsoucalas G, Tsoucalas I. The First Mythological Description of an Incubator. *Iran J Pediatr.* 2012;22(1):142-3.
10. Saling E, Dräger M, Stupin JH. *The Beginnings of Perinatal Medicine.* Berlin: De Gruyter, 2014: 132-8.
11. World Health Organization (November 2014). "Preterm birth Fact sheet N°363". *who.int.* Archived from the original on 7 March 2015. Retrieved 6 March 2015.
12. *Bulletins-Obstetrics ACoP. ACOG practice bulletin no. 80: premature rupture of membranes. Clinical management guidelines for obstetriciangynecologists.* *Obstet Gynecol* 2017;109:1007–19.
13. Frey HA, Klebanoff MA. The epidemiology, etiology, and costs of preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2016;21(2):68–73.

14. Harrison MS, Goldenberg RL. Global burden of prematurity. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2016;21(2):74–79.
15. World Health Organization. Born too soon: the global action report on preterm birth. http://www.who.int/pmnch/media/news/2012/201204_borntoosoonreport.pdf [accessed May 29, 2015]
16. Centers for Disease Control and Prevention. (2018). *Births: Final Data for 2016*. Retrieved May 16, 2018, from https://www.cdc.gov/nchs/data/nvsr/nvsr67/nvsr67_01.pdf
17. Institute of Medicine (US) Committee on Understanding Premature Birth and Assuring Healthy Outcomes; Behrman RE, Butler AS, editors. *Preterm Birth: Causes, Consequences, and Prevention*. Washington (DC): National Academies Press (US); 2007. 9, Diagnosis and Treatment of Conditions Leading to Spontaneous Preterm Birth. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11373/>
18. Sotiriadis A, Papatheodorou S, Kavvadias A, Makrydimas G. Transvaginal cervical length measurement for prediction of preterm birth in women with threatened preterm labor: a meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010; 35:54.
19. Iams JD, Cebrik D, Lynch C, et al. The rate of cervical change and the phenotype of spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2011; 205:130.
20. Committee on Practice Bulletins—Obstetrics and the American Institute of Ultrasound in Medicine. Practice Bulletin No. 175: Ultrasound in Pregnancy. *Obstet Gynecol* 2016; 128:e241.
21. Haas DM, Imperiale TF, Kirkpatrick PR, et al. Tocolytic therapy: a meta-analysis and decision analysis. *Obstet Gynecol* 2009; 113:585
22. Flenady V, Hawley G, Stock OM, Kenyon S, Badawi N. Prophylactic antibiotics for inhibiting preterm labour with intact membranes. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2013, Issue 12. Art. No.: CD000246. DOI: 10.1002/14651858.CD000246.pub2
23. Shivani D, Quek BH, Tan PL, Shephali T. Does rescue cerclage work? *J Perinat Med.* 2018;46 (8):876–880. doi:10.1515/jpm-2017-0311

24. Oskovi Kaplan ZA, Ozgu-Erdinc AS. Prediction of Preterm Birth: Maternal Characteristics, Ultrasound Markers, and Biomarkers: An Updated Overview. *J Pregnancy*. 2018;2018:8367571. Published 2018 Oct
25. Ville Y, Rozenberg P. Predictors of preterm birth. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018;52:23–32. doi:10.1016/j.bpobgyn.2018.05.002
26. Glover AV, Manuck TA. Screening for spontaneous preterm birth and resultant therapies to reduce neonatal morbidity and mortality: A review. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2018;23(2):126–132.
27. Suff N, Story L, Shennan A. The prediction of preterm delivery: What is new? *Semin Fetal Neonatal Med*. 2019;24(1):27–32.
28. Medley N, Poljak B, Mammarella S, Alfirovic Z. Clinical guidelines for prevention and management of preterm birth: a systematic review. *Br J Obstet Gynaecol* 2018;125:1361–9.
29. Gervasi MT, Romero R, Bracalente G, Erez O, Dong Z, Hassan SS, et al. Midtrimester amniotic fluid concentrations of interleukin-6 and interferon-gamma-inducible protein-10: evidence for heterogeneity of intra-amniotic inflammation and associations with spontaneous early (<32 weeks) and late (>32 weeks) preterm delivery. *J Perinat Med* 2012;40:329–43.
30. Rehbinder EM, Lødrup Carlsen KC, Staff AC, et al. Is amniotic fluid of women with uncomplicated pregnancies free of bacteria? *Am J Obstet Gynecol* 2018;169:805–16.
31. Baud O, Emilie D, Pelletier E, Lacaze-Masmonteil T, Zupan V, Fernandez H, Dehan M, Frydman R, Ville Y. Amniotic fluid concentrations of interleukin-1 β , interleukin-6 and TNF- α in chorioamnionitis before 32 weeks of gestation: histological associations and neonatal outcome. *Brit J Obstet Gynaecol* 1999; 106: 72–77.
32. Biggio JR, Ramsey PS, Cliver SP, Lyon MD, Goldenberg RL, Wenstrom KD. Midtrimester amniotic fluid matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) levels above the 90th percentile are a marker for subsequent preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192:109–13.
33. Apuzzio J, Chan Y, Al-Khan A, Illsley N, Kim PL, Vonhaggen S. Second-trimester amniotic fluid interleukin-10 concentration predicts preterm delivery. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2004;15:313–17.

34. Yoon B, S Oh, R Romero, S Shim, S Han, J Park, J Jun. An elevated amniotic fluid matrix metalloproteinase-8 level at the time of genetic amniocentesis is a risk factor for preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185: 1162.
35. Garite TJ, Freeman RK. Chorioamnionitis in the preterm gestation. *Obstet Gynecol* 1982; 59: 539.
36. Medda E, Donati S, Spinelli A, Di Renzo GC, EUROPOP group: Genetic amniocentesis: a risk factor for preterm delivery? *Eur J Obstet Gynecol* 2003; 110:153-159.
37. Suzuki Y, Yamamoto T, Kojima K, Tanemura M, Tateyama H, Suzumori K. Evaluation levels of cytokines in amniotic fluid of women with intrauterine infection in the early second trimester. *Fetal Diagn Ther* 2006;21:45–50.
38. Saito S, Kasahara T, Kato Y, Ishihara Y, Ichijo M. Elevation of amniotic fluid interleukin 6 (IL-6), IL-8 and granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) in term and preterm parturition. *Cytokine* 1993;5:81–8.
39. Romero R, Yoon BH, Mazor M, Gomez R, Gonzalez R, Diamond MP, et al. A comparative study of the diagnostic performance of amniotic fluid glucose, white blood cell count, interleukin-6, and gram stain in the detection of microbial invasion in patients with preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:839–51.
40. Romero R, Yoon BH, Mazor M, Gomez R, Diamond MP, Kenney JS, et al. The diagnostic and prognostic value of amniotic fluid white blood cell count, glucose, interleukin-6, and gram stain in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:805–16.
41. Yoon BH, Romero R, Kim CJ, Jun JK, Gomez R, Choi JH, et al. Amniotic fluid interleukin-6: a sensitive test for antenatal diagnosis of acute inflammatory lesions of preterm placenta and prediction of perinatal morbidity. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:960–70.
42. Potter NT, Kosuda L, Bigazzi PE, Fleming AD, Vintzileos AM, Homon C, Salafia CM. Relationships among cytokines (IL-1, TNF, and IL-8) and histologic markers of acute ascending intrauterine infection. *J Matern-Fetal Med* 1992;1:142–147.
43. Yoon BH, Romero R, Kim CJ, Jun JK, Gomez R, Choi JH, Syn HC. Amniotic fluid interleukin-6: a sensitive test for antenatal diagnosis of acute

- inflammatory lesions of preterm placenta and prediction of perinatal morbidity. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:960 – 970.
44. Hitti J, Tarczy-Hornoch P, Murphy J, Hillier SL, Aura J, Eschenbach DA. Amniotic fluid infection, cytokines, and adverse outcome among infants at 34 weeks' gestation or less. *Obstet Gynecol* 2001; 98:1080 – 1088.
 45. Yoon BH, Romero R, Moon JB, Shim SS, Kim M, Kim S, Jim JK. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2001;185:1130 – 1136.
 46. Martinez E, Figueroa R, Garry D, Visintainer P, Patel K, Verma U, Sehgal PB, Tejani N. Elevated amniotic fluid interleukin-6 as a predictor of neonatal periventricular leukomalacia and intraventricular hemorrhage. *J Matern Fetal Invest* 1998;8:101– 107.
 47. Yoon BH, Jun JK, Romero R, Park KH, Gomez R, Choi JH, Kim IO. Amniotic fluid inflammatory cytokines (interleukin-6, interleukin-1b, and tumor necrosis factor-a), neonatal brain white matter lesions, and cerebral palsy. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:19–26.
 48. Yoon BH, Romero R, Kim CJ, Koo JN, Choe G, Syn HC, JG. High expression of tumor necrosis factor-a and interleukin-6 in periventricular leukomalacia. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:406 – 411.
 49. Bamberg C, Fotopoulou C, Thiem D, Roehr CC, Dudenhausen JW, Kalache KD. Correlation of midtrimester amniotic fluid cytokine concentrations with adverse pregnancy outcome in terms of spontaneous abortion, preterm birth, and preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012;25:812–17.
 50. Himaya E, Rhalmi N, Girard M, Tetu A, Desgagne J, Abdous B, et al. Midtrimester intra-amniotic sludge and the risk of spontaneous preterm birth. *Am J Perinatol.* 2011;28:815–20.
 51. Thomakos N, Daskalakis G, Papapanagiotou A, Papantoniou N, Mesogitis S, Antsaklis A. Amniotic fluid interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha at mid-trimester genetic amniocentesis: relationship to intraamniotic microbial invasion and preterm delivery. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010;148:147–51.
 52. Lee J, Romero R, Dong Z, Xu Y, Qureshi F, Jacques S, et al. Unexplained fetal death has a biological signature of maternal anti-fetal rejection: chronic

- chorioamnionitis and alloimmune anti-human leucocyte antigen antibodies. *Histopathology* 2011; 59:928– 38.
53. Lee J, Romero R, Xu Y, Kim JS, Park JY, Kusanovic JP, et al. Maternal HLA panel-reactive antibodies in early gestation positively correlate with chronic chorioamnionitis: evidence in support of the chronic nature of maternal anti-fetal rejection. *Am J Reprod Immunol* 2011; 66:510–26.
 54. Lee J, Romero R, Xu Y, Kim JS, Topping V, Yoo W, et al. A signature of maternal anti-fetal rejection in spontaneous preterm birth: chronic chorioamnionitis, anti-human leukocyte antigen antibodies, and C4d. *PLoS One*. 2011;16: 806-36.
 55. Madan I, Romero R, Kusanovic JP, Mittal P, Chaiworapongsa T, Dong Z, et al. The frequency and clinical significance of intra-amniotic infection and/or inflammation in women with placenta previa and vaginal bleeding: an unexpected observation. *J Perinat Med* 2010; 38:275– 9.
 56. Malamitsi-Puchner A, Vrachnis N, Samoli E, Baka S, Hassiakos D, Creatsas G. Elevated second trimester amniotic fluid interferon gamma-inducible T-cell alpha chemoattractant concentrations as a possible predictor of preterm birth. *J Soc Gynecol Invest* 2006; 13:25– 9.
 57. Malamitsi-Puchner A, Vrachnis N, Samoli E, Baka S, Iliodromiti Z, Puchner KP, et al. Possible early prediction of preterm birth by determination of novel proinflammatory factors in midtrimester amniotic fluid. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1092:440– 9.
 58. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clin Infect Dis*. 2018;67(6):e1–e94.
 59. Vogel JP, Chawanpaiboon S, Watananirun K, Lumbiganon P, Petzold M, Moller AB, et al. Global, regional and national levels and trends of preterm birth rates for 1990 to 2014: protocol for development of World Health Organization estimates. *Reprod Health* 2016;13(1):76.
 60. Morisaki N, Ganchimeg T, VogelJP, Zeitlin J, Cecatti JG, Souza JP, et al. Impact of stillbirths on international comparisons of preterm birth rates: a secondary analysis of the WHO multi-country survey of Maternal and Newborn Health. *BJOG* 2017; 124(9):1346e54.

61. Piya Chaemsaitong, Roberto Romero, Steven J. Korzeniewski, Zhong Dong, Lami Yeo et al. (2015) A point of care test for the determination of amniotic fluid interleukin-6 and the chemokine CXCL-10/IP-10, *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 28:13, 1510-1519.
62. Ruiz M, Milagros Ruiz, Peter Goldblatt, Joana Morrison, Lubomír Kukla et al. Mother's education and the risk of preterm and small for gestational age birth: meta-analysis of 12 European cohorts . *J Epidemiol Community Health* 2015;69:826–833.
63. Romero R, Gomez R, Chaiworapongsa T, et al. The role of infection in preterm labour and delivery. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2001;15:41–56.
64. R. Romero, J. Miranda, T. Chaiworapongsa et al., "Prevalence and clinical significance of sterile intra-amniotic inflammation in patients with preterm labor and intact membranes," *American Journal of Reproductive Immunology*, vol. 72, no. 5, pp. 458– 474, 2014.
65. H. Alfakry, E. Malle, C. N. Koyani, P. J. Pussinen, and T. Sorsa, "Neutrophil proteolytic activation cascades: a possible mechanistic link between chronic periodontitis and coronary heart disease," *Innate Immunity*, vol. 22, no. 1, pp. 85–99, 2016.
66. Sazonova A, Kallen K, Thurin-Kjellberg A, Wennerholm U, Bergh C. Factors Affecting Obstetric Outcome of Singletons Born After IVF. *HUMAN REPRODUCTION*. July 2011;26:2878-2886.
67. Lumley J. Method of delivery for the preterm infant. *BJOG* 2003 Apr; 110 Suppl 20:88-92.
68. Yinglin Liu, Yukun Liu, Rui Zhang, Liqiong Zhu & Ziya Feng (2016): Early or mid-trimester amniocentesis biomarkers for predicting preterm delivery: a meta-analysis, *Annals of Medicine*, 2016, 1365-2060
69. Apgar V. A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. *Curr Res Anesth Analg*. 1953;32(4):260–267.
70. Medley N, Poljak B, Mammarella S, Alfircvic Z. Clinical guidelines for prevention and management of preterm birth: a systematic review. *Br J Obstet Gynaecol* 2018;125:1361–9.
71. Owen J, Yost N, Berghella V, et al. Mid-trimester endovaginal sonography in women at high risk for spontaneous preterm birth. *JAMA* 2001;286:1340–8.

72. Smith GCS, Celik E, To M, Khouri O, Nicolaides KH. Cervical length at midpregnancy and the risk of primary cesarean delivery. *N Engl J Med* 2008;358:1346–53.
73. Goldenberg RL, Iams JD, Mercer BM, et al., National Institute of Child Health and Human Development Maternal–Fetal Medicine Units Network. What we have learned about the predictors of preterm birth. *Semin Perinatol* 2003;27:185–93.
74. Salomon LJ, Diaz-Garcia C, Bernard JP, Ville Y. Reference range for cervical length throughout pregnancy: non-parametric LMS-based model applied to a large sample. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009;33:459–64.
75. Crane JMG, Hutchens D. Transvaginal sonographic measurement of cervical length to predict preterm birth in asymptomatic women at increased risk: a systematic review. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008;31:579–87.
76. Iams JD, Grobman WA, Lozitska A, et al. Adherence to criteria for transvaginal ultrasound imaging and measurement of cervical length. *Am J Obstet Gynecol* 2013;209:365.e1–5.
77. Souka AP, Papastefanou I, Michalitsi V, Salambasis K, Chrelias C, Salamalekis G, Kassanos D. Cervical length changes from the first to second trimester of pregnancy, and prediction of preterm birth by first-trimester sonographic cervical measurement. *J Ultrasound Med* 2011;30:997–1002.
78. Moroz LA, Simhan HN. Rate of sonographic cervical shortening and the risk of spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2012;206:234.e1–5.
79. Esplin MS, Elovitz MA, Iams JD, et al. Predictive accuracy of serial transvaginal cervical lengths and quantitative vaginal fetal fibronectin levels for spontaneous preterm birth among nulliparous women. *JAMA* 2017;317:1047
80. Rozenberg P. Universal cervical length screening for singleton pregnancies with no history of preterm delivery, or the inverse of the Pareto principle. *Br J Obstet Gynaecol* 2017;124:1038–45.
81. Einerson BD, Grobman WA, Miller ES. Cost-effectiveness of risk-based screening for cervical length to prevent preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2016;215:100.e1–7.

82. Wulff CB, Rode L, Rosthøj S, Hoseth E, Petersen OB, Tabor A. Transvaginal sonographic cervical length in first and second trimesters in a low-risk population: a prospective study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2018;51:604–13.
83. Romero R and Mazor M. Infection and preterm labor. *Clin Obstet Gynecol* 1988;31:553-84.
84. Hollier LM. Preventing preterm birth: what works, what doesn't. *Obstet Gynecol Surv* 2005;60:124-31.
85. Gibbs RS, Romero R, Hillier SL, Eschenbach DA, Sweet RL. A review of premature birth and subclinical infection. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166:1515-28.
86. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med* 2000;342:1500-7.
87. Seong Jin Choi, M.D.1 , Soon Deok Park, M.S.2 , In Ho Jang, M.S.2 et all. The Prevalence of Vaginal Microorganisms in Pregnant Women with Preterm Labor and Preterm Birth. *Ann Lab Med* 2012;32:194-200
88. Ebru Tarım, Tayfun Bag, Esra Bulgan, Kılıc, Nurzen Sezgin et all. Are amniotic fluid C-reactive protein and glucose levels, and white blood cell counts at the time of genetic amniocentesis related with preterm delivery? *J. Perinat. Med.* 33 (2005) 524–529
89. Romero R, M Emanian, R Quintero, et al.: The value and limitations of the gram stain of the gram stain examination in the diagnosis of intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol* 159 (1988) 114
90. Garite TJ, RK Freeman: Chorioamnionitis in the preterm gestation. *Obstet Gynecol* 59 (1982) 539
91. Medda E, S Donati, A Spinelli, GC Di Renzo, EUROPOP group: Genetic amniocentesis: a risk factor for preterm delivery? *Eur J Obstet Gynecol* 110 (2003) 153
92. Ebru Tarım, Tayfun Bag, Esra Bulgan, Kılıc, Nurzen Sezgin et all. Are amniotic fluid C-reactive protein and glucose levels, and white blood cell counts at the time of genetic amniocentesis related with preterm delivery? *J. Perinat. Med.* 33 (2005) 524–529

93. Romero R, C Jiminez, A Lohda: Amniotic fluid glucose concentration: a rapid, simple, method for the detection of intraamniotic of intraamniotic infection in preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 63 (1990) 968
94. Kirshon B, B Rosenfeld: Amniotic fluid glucose and intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol* 164 (1991) 818
95. Weiss P, H Hoffman, R Winter, P Pu"rstner, W Lichtenegger: Amniotic fluid glucose values in normal and abnormal pregnancies. *Obstet Gynecol* 65 (1985) 333
96. K. J. Oh, S. E. Lee, H. Jung, G. Kim, R. Romero, and B. H. Yoon, "Detection of ureaplasmas by the polymerase chain reaction in the amniotic fluid of patients with cervical insufficiency," *Journal of Perinatal Medicine*, vol. 38, no. 3, pp. 261–268, 2010.
97. Underwood MA, Gilbert WM, Sherman MP: Amniotic fluid: not just fetal urine anymore. *J Perinatol* 2005, 25(5):341–348
98. Wintour EM, Shandley L: Effects of fetal fluid balance on amniotic fluid volume. *Semin Perinatol* 1993, 17(3):158–172.
99. Oboh AE, Orsi NM, Campbell J: Amniotic fluid cytokine profile in association with fetal hyperechogenic bowel. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006, 128(1–2):86–90.
100. Shohat B, Shohat M, Faktor JH, Barkay G, Harell D, Kozenitzky L: Soluble interleukin-2 receptor and interleukin-2 in human amniotic fluid of normal and abnormal pregnancies. *Biol Neonate* 1993, 63(5):281–284
101. Velez DR, Fortunato SJ, Morgan N, Edwards TL, Lombardi SJ, Williams SM, Menon R: Patterns of cytokine profiles differ with pregnancy outcome and ethnicity. *Hum Reprod* 2008, 23(8):1902–1909.
102. Bamberg C, Fotopoulou C, Linder M, Roehr CC, Dudenhausen JW, Henrich W, Kalache K: Mid-trimester amniotic fluid concentrations of the proinflammatory cytokines IL-6, IL-8, TNF-alpha, and lipopolysaccharide binding protein in normal pregnancies: a prospective evaluation according to parity, gestational age, and fetal gender. *J Perinat Med* 2011, 39(4):403–409.
103. Arntzen KJ, Kjollesdal AM, Halgunset J, Vatten L and Austgulen R: TNF, IL-1, IL-6, IL-8 and soluble TNF receptors in relation to chorioamnionitis and premature labor. *J Perinat Med* 26(1): 17-26, 1998.

104. Hayashi M, Zhu K, Sagesaka T, Fukasawa I and Inaba N: Amniotic fluid levels of tumor necrosis factor- α and soluble tumor necrosis factor receptor 1 before and after the onset of labor in normal pregnancies. *Horm Metab Res* 40(4): 251-256, 2008.
105. Fortunato SJ, Menon R, Lombardi SJ. Role of tumor necrosis factor- α in the premature rupture of membranes and preterm labor pathways. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;187(5):1159–1162.
106. Menon R, Velez DR, Morgan N, Lombardi SJ, Fortunato SJ et al : Genetic regulation of amniotic fluid TNF- α and soluble TNF receptor concentrations affected by race and preterm birth. *Hum Genet* 124(3): 243-253, 2008.
107. Thomakos N, Daskalakis G, Papapanagiotou A, Papantoniou N, Mesogitis S and Antsaklis A: Amniotic fluid interleukin-6 and tumor necrosis factor- α at mid-trimester genetic amniocentesis: relationship to intra-amniotic microbial invasion and preterm delivery. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 148(2): 147-151, 2010.
108. Nikolaos Vrachnis, Stamatios Karavolos, Zoe Iliodromiti, Stavros Sifakis, Charalambos Siristatidis et al, Impact of Mediators Present in Amniotic Fluid on Preterm Labour. *In vivo* 26: 799-812 (2012)
109. Wei SQ, Fraser W and Luo ZC: Inflammatory cytokines and spontaneous preterm birth in asymptomatic women: a systematic review. *Obstet Gynecol* 116(2 Pt 1): 393-401, 2010.
110. Suzuki Y, Yamamoto T, Kojima K, Tanemura M, Tateyama H and Suzumori K: Evaluation levels of cytokines in amniotic fluid of women with intrauterine infection in the early second trimester. *Fetal Diagn Ther* 21(1): 45-50, 2016.
111. Lee KY, Jun HA, Kim HB and Kang SW: Interleukin-6, but not relaxin, predicts outcome of rescue cerclage in women with cervical incompetence. *Am J Obstet Gynecol* 191(3): 784-789, 2014.
112. Velez DR, Fortunato SJ, Williams SM and Menon R: Interleukin-6 (IL-6) and receptor (IL6-R) gene haplotypes associate with amniotic fluid protein concentrations in preterm birth. *Hum Mol Genet* 17(11): 1619-1630, 2008.
113. Sharon S.W. Chow, Maria E. Craig, Cheryl A. Jones, Beverley Hall, Jacki Catteau et al, Differences in amniotic fluid and maternal serum cytokine

- levels in early midtrimester women without evidence of infection. *Cytokine* 44 (2008) 78–84.
114. Hyunsoo Park, Kyo Hoon Park, Yu Mi Kim, Song Yi Kook, Se Jeong Jeon et al. Plasma inflammatory and immune proteins as predictors of intra-amniotic infection and spontaneous preterm delivery in women with preterm labor: a retrospective study, *Pregnancy and Childbirth* (2018) 18:146.
 115. Hsu CD, Meaddough E, Aversa K, et al. Elevated amniotic fluid levels of leukemia inhibitory factor, interleukin 6, and interleukin 8 in intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol* 2012;179(5):1267 – 1270
 116. Jacobsson B, Holst RM, Wennerholm UB, Andersson B, Lilja H, Hagberg H. Monocyte chemotactic protein-1 in cervical and amniotic fluid: relationship to microbial invasion of the amniotic cavity, intraamniotic inflammation, and preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189(4):1161 – 1167
 117. Vahid Ehsani, Maryam Mortazavi , Khodayar Ghorban, Maryam Dadmanesh, Reza Bahramabadi et al. March 2019, Role of maternal interleukin-8 (IL-8) in normal-term birth in the human. *Reproduction, Fertility and Development*, 94, 230–234
 118. Oliver R and Lamount R: Role of cytokines in spontaneous preterm labour and preterm birth. In: *Progress in obstetrics and gynaecology*, 16, Elsevier, 2003.
 119. Sadowsky DW, Adams KM, Gravett MG, Witkin SS and Novy MJ: Preterm labor is induced by intraamniotic infusions of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha but not by interleukin-6 or interleukin-8 in a nonhuman primate model. *Am J Obstet Gynecol* 195(6): 1578-1589, 2006.
 120. Sadowsky DW, Novy MJ, Witkin SS and Gravett MG: Dexamethasone or interleukin-10 blocks interleukin-1beta-induced uterine contractions in pregnant rhesus monkeys. *Am J Obstet Gynecol* 188(1): 252-63, 2003.
 121. Nikolaos Vrachnis, Stamatios Karavolos, Zoe Iliodromiti, Stavros Sifakis, Charalambos Siristatidis et al, Impact of Mediators Present in Amniotic Fluid on Preterm Labour. *In vivo* 26: 799-812 (2012)
 122. Hayashi M, Zhu K, Sagesaka T, Fukasawa I and Inaba N: Amniotic fluid levels of tumor necrosis factor-alpha and soluble tumor necrosis factor receptor 1 before and after the onset of labor in normal pregnancies. *Horm Metab Res* 40(4): 251-256, 2008.

123. Figueroa, R., Garry, D., Elimian, A., Patel, K., Sehgal, P. B., & Tejani, N. (2005). Evaluation of amniotic fluid cytokines in preterm labor and intact membranes. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 18(4), 241–247.
124. Wei S, Fraser W, Luo Z. Inflammatory cytokines and spontaneous preterm birth in asymptomatic women: a systematic review. *Obstet Gynecol* 2010;116:393–401.
125. Amabebe E, Chapman DR, Stern VL, Stafford G, Anumba DOC. Mid-gestational changes in cervicovaginal fluid cytokine levels in asymptomatic pregnant women are predictive markers of inflammation-associated spontaneous preterm birth. *J Reprod Immunol* 2018;126:1–10.
126. National institute for health and care excellence. Preterm labour. (New guideline 25.) 2015. Available from: <http://www.nice.org.uk/guidance/ng25>. 10.
127. <http://www.cdc.gov/reproductivehealth/maternalinfanthealth/pretermbirth.htm> (last accessed 16 May 2016).
128. Lucaroni, F., Morciano, L., Rizzo, G., D' Antonio, F., Buonomo, E., Palombi, L., & Arduini, D. (2017). Biomarkers for predicting spontaneous preterm birth: an umbrella systematic review. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 31(6), 726–734.
129. Shah J, Baxi B. Identification of biomarkers for prediction of preterm delivery. *J Med Soc* 2016;30:3-14
130. Cháfer-Pericás C, Stefanovic V, Sánchez-Illana Á, et al. Novel biomarkers in amniotic fluid for early assessment of intraamniotic infection. *Free Radic Biol Med*. 2015;89:734–740.