

PRETERM ERKEN MEMBRAN RÜPTÜRÜNDE KORYOAMNİYONİT TANISI İÇİN uPAR, ST2, IL-33, IL-6'NİN ROLÜ

Yasemin ÇEKMEZ¹, Doğa ÖCAL¹, Enis ÖZKAYA¹, Tuncay KÜÇÜKÖZKAN¹, Ferhat ÇEKMEZ²

¹ Dr. Sami Ulus Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Ankara

² Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Çocuk Hastalıkları Kliniği, Yenidoğan Servisi, Ankara

ÖZET

Amaç: Preterm erken membran rüptürü (PEMR) 37.gebelik haftasından doğum eylemi başlamadan önce fetal zarların açılması olarak tanımlanır. Zarların erken açılmasında en sık neden olarak subklinik intrauterin enfeksiyon suçlanmaktadır. Bu çalışmada PEMR 'lü gebelerin serumlarındaki uPAR,ST2 ve IL-33 düzeylerinin belirlenerek, oluşabilecek olası bir koryoamniyotiti klinik bulgu olmadan saptamak amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntemler: 24-34. Gebelik haftaları arasındaki toplam 70 hasta çalışmaya alındı. Hastaların 45 tanesi PEMR ve 25 tanesi ise obstetrik açıdan sorunsuz olan gebelerden oluşmaktaydı. Çalışma grubu histolojik olarak koryoamniyotiti olan(PEMR-HC) ve olmayan PEMR'lü hastalar olarak iki gruba ayrıldı.

Sonuç: Ortalama IL-33, ST2 ve uPAR düzeyleri PEMR-HC olan grupta PEMR ve kontrol grubuna oranla anlamlı olarak yüksek olarak bulundu.

Yorum: Sonuç olarak uPAR, ST2, IL-33 ve IL-6'nın PEMR'de klinik bulgular oluşmadan önce enfeksiyon tanısı için kullanılabilir belirteçler olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: koryoamniyotit, PEMR, IL-33, uPAR

Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi, (J Turk Soc Obstet Gynecol), 2013; Cilt: 10, Sayı: 4, Sayfa: 231- 5

THE ROLE OF uPAR,ST2,IL-33,IL-6 FOR THE DIAGNOSIS OF PRETERM PREMATURE RUPTURE OF MEMBRANES

SUMMARY

Objective: Preterm premature rupture of membranes (PPROM) is defined as rupture of membranes that happens before onset of labor and 37 weeks. Subclinical intrauterine infection is major etiological factor in the pathogenesis of PPRM. This study was performed to evaluate the levels of maternal serum uPAR ST2 and IL-33 in PPRM to determine the possible chorioamnionitis without any clinical signs.

Material and methods: A total of 70 pregnant women, of which 45 with PPRM between 24 and 34 weeks gestation and 25 normal pregnant women without PPRM were included in the study. Study group was seperated into two subgroups as PPRM and PPRM- HC (histological chorioamnionitis).

Results: The mean serum IL-33, ST2 and uPAR values in the PPRM-HC group were significantly higher than PPRM and control group.

Conclusion: These results suggest that uPAR, ST2, IL-33 and IL-6 can be used as reliable biomarkers to determine infection without any clinical signs.

Key words: chorioamnionitis, PPRM, IL-33, uPAR

Journal of Turkish Society of Obstetrics and Gynecology, (J Turk Soc Obstet Gynecol), 2013; Vol: 10, Issue: 4, Pages: 231- 5

Yazışma adresi: Uzm. Dr. Yasemin Çekmez, Dr. Sami Ulus Hastahanesi, Ankara

Tel.: (0505) 333 90 47

e-posta: yaseminkandicekmez@hotmail.com

Alındığı tarih: 31.05.2012, revizyon sonrası alınma: 05.08.2013, kabul tarihi: 07.08.2013, online yayın tarihi: 13.08.2013

GİRİŞ

Erken membran rüptürü doğum eylemi başlamadan önce fetal zarların açılması olarak tanımlanır. Eğer bu durum 37. Gebelik haftasından önce ortaya çıkarsa preterm erken membran rüptürü (PEMR) olarak adlandırılır. PEMR %30-40 oranında prematüre doğumla ilişkili olması nedeniyle önemlidir⁽¹⁾.

PEMR olgularının %50'de amniyotik sıvıda mikrovazyon saptanmasına karşın bunların ancak %12,5'de kültürde etken üretilebilmiştir⁽²⁾. PEMR mortalite ve morbiditesinde intrauterin enfeksiyon önemli rol oynar ve klinik olarak aşkar enfeksiyon varlığında mortalite ve morbiditenin dört kat arttığı bilinmektedir⁽³⁾.

Erken dönemde sedimentasyon, C-reaktif protein (CRP), beyaz küre sayısı, sola kayma, vajinal kültür gibi rutin testlerle intrauterin enfeksiyon tanısını koymak zordur. Buna ek olarak ateş, fetomaternal taşikardi gibi klinik enfeksiyon belirtileri de erken evrede çoğunlukla görülmeyeceği için tanıda yardımcı olmaz⁽⁴⁾.

IL-33, IL-1 ailesindedir ve Th2 immün cevabını düzenleyerek inflamasyonda rol oynar. Düzeyindeki yükseklik kronik inflamasyonda kötü prognozla ilişkili bulunmuştur^(5,6).

ST2 başta makrofaj olmak üzere mast hücreleri ve Th2 gibi pek çok hücre yüzeyinde eksprese olur. Spesifik ligandı IL-33'tür ve sepsis olgularında yüksek düzeylerde saptandığında kötü prognozla ilişkilendirilmiştir⁽⁷⁾.

uPAR toll-like reseptör (TLR-2) üzerinden nötrofil aktivasyonu yaparak inflamasyonda önemli rol oynar ve ürokinaz plazminojen aktivatörü ile birlikte lökosit adezyon ve migrasyonunu inhibe eder^(8,9). Yapılmış pek çok çalışmada uPAR düzeyleri enfeksiyonun şiddeti ile uyumlu olarak serumda yüksek olarak saptanmıştır⁽¹⁰⁾.

Amniotic Fluid Infection Nosology Komitesi histolojik koryoamniyonit tanısının doğrulanmasındaki belirsizliği gidermek amaçlı yaptığı bir çalışmada 6 patoloğun ortak kararları ile bir guideline hazırlamıştır. Yapılan çalışmada akut koryoamniyonit/maternal inflamatuvar yanıt, akut koryoamniyonit/fetal yanıt, kronik koryoamniyonit, kronik damar trombüsü varlığı, periferel funisit varlığı, akut villitis olup olmadığı, akut intervilloz ve intervillöz abse olup olmadığı ve desidual plazma hücreleri incelenmiştir⁽¹¹⁾. Buna göre periferel

funisit ve akut villitis varlığı histolojik koryoamniyonit tanısında diğerlerine göre daha üstün olarak bulunmuştur. Biz de çalışmamızda histolojik koryoamniyonit tanısı için periferel funisit ve akut villitis olup olmadığını inceledik.

PEMR olgulardaki olası intrauterin enfeksiyonun erken teşhisi prematüre doğum, maternal ve fetal mortalite gibi komplikasyonlarından korunmak için gereklidir. Biz de bu çalışmamızda PEMR gebelerin serumlarındaki ST2, uPAR, IL-33 ve IL-6 düzeylerini inceleyerek bu belirteçlerin subklinik koryoamniyonit tanısında kullanılabilirliğini araştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma etik kurul kararı alındıktan sonra Ekim 2012-Şubat 2013 tarihleri arasında yapıldı. 24-34. gebelik haftaları arasındaki toplam 70 hasta çalışmaya alındı. Hastaların 45 tanesi PEMR, geri kalan 25 hasta ise mevcut gebelik takiplerinde bir problem saptanmamış, ağrısı olmayan, amniyon zarı intakt gebelerden oluşmaktaydı. PEMR olan olgular klinik olarak aşkar koryoamniyoniti olmayan hastalardan seçildi. Maternal ateş, maternal taşikardi (>100/dk), fetal taşikardi (>160/dk) ve pürülan amniyotik mayi izlenmesi aşkar koryoamniyonit belirtisi olarak kabul edildi.

Hastaların karakteristik özellikleri Tablo I'de özetlenmiştir. Anemi, kalp hastalığı, diyabet, preeklampsi, çoğul gebelik, kronik hipertansiyon, antepartum kanama, immünolojik hastalık öyküsü, polihidramnios, idrar yolu enfeksiyonu gibi çeşitli enfeksiyonu olan gebeler çalışma dışı tutuldu.

Çalışma grubuna alınan hastalar histolojik olarak koryoamniyoniti olan (PEMR-HC, n=19) ve olmayan (n=26) PEMR olguları olarak iki alt gruba ayrıldı. Histolojik koryoamniyonit tanısı Amniotic Fluid Infection Nosology Comitee'nin (AFINC) kriterlerine göre doğrulandı. Obstetrik olarak stabil olan 25 gebe hasta kontrol grubu olarak seçildi. Hastalardan onam alınmasını takiben medikal tedavi öncesinde 5 cc venöz kan örneği alındı ve serumları ayrılarak IL-6, uPAR, IL-33, ST2 çalışılmak üzere -800C de saklandı. Rutin tetkiklerden olan hemogram incelemesi ile otomatik sayaçlarla WBC değerleri saptandı, Cell Dyn 3700 (Abbott Diagnostics Division, USA). CRP Roche-Hitachi(r) 912 analizörü kullanılarak incelendi. (Roche

Diagnosics, Mannheim, Germany). Serum IL-6 (Bender Medsystems(r) Vienna, Austria), IL-33(GenWay Biotech, San Diego, USA), uPAR (Assaypro, St. Charles, MO, USA) ve sST2 (MBL) düzeyleri ELISA yöntemi ile uygun kitlerle üretici firmalarının önerileri doğrultusunda incelendi.

İstatistik analiz SPSS 12.0 software (IBM, Chicago, IL, USA) isimli istatistik programı kullanılarak yapıldı. Chi-square ve Wilcoxon Rank Sum testleri kullanılarak tanımlayıcı istatistikler ortalama \pm standart deviasyon olarak tanımlandı. $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

SONUÇ

Grupların özellikleri Tablo I'de özetlenmiştir. İki grup arasında anne yaşı, gravida, parite, başvuru anındaki gebelik haftası açısından fark izlenmedi. CRP, IL-6, uPAR, IL-33 ve ST2'nin ortalama serum düzeyleri PEMR-HC olan grupta diğer gruplara (kontrol, PEMR) oranla anlamlı olarak daha yüksek saptandı (Tablo I).

Yaptığımız inceleme sonuçlarına göre CRP'nin cut-off değeri 10,3 pg/mL olarak saptandı ve bu değer %78 spesifite, %72 sensitivite ile PEMR'de koryoamniyonit tanısını doğrulamaktaydı. IL-6'nın cut-off değerini ise 9.5 pg/mL olarak bulduk ve bu değer üzerinde olduğu olgularda %91 sensitivite, %90 spesifite ile koryoamniyonit tanısını doğruladığı görüldü. IL-33'ün cut-off değerini 5.4 ng/ml olarak bulduk ve yine bu değer üzerinde olduğu olgularda %88 sensitivite %89 spesifite ile koryoamniyonit varlığını saptandı. ST2 ve uPAR'ın cut-off değerleri sırasıyla

2,1 ng/ml ve 6,5 ng/ml olarak bulundu. Bu değerlerin üzerinde ST2 %88, uPAR ise %87 sensitivite, ST2 %90 uPAR %88 spesifite ile koryoamniyonit varlığı doğrulandı. Yaptığımız bu çalışmada ST2, uPAR, IL-6 ve IL-33 düzeylerinin mevcut cut-off değerlerinin üzerinde olduğu olgularda koryoamniyonitin saptanmasında ve hastalığın şiddetini öngörmeye CRP'ye oranla daha üstün olduğunu gördük.

TARTIŞMA

37. gebelik haftasından önce olan doğum preterm doğum olarak adlandırılır. Ülkemizdeki sıklığı tam olarak bilinmeyen preterm doğumlar spontan preterm doğumlar (SPD, %40-50), preterm erken membran rüptürü (PEMR, %25-40) ve obstetrik nedenlerden dolayı gerçekleşen preterm doğumlar (%20-25) olarak üçe ayrılır⁽¹²⁾.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda histolojik koryoamniyonit varlığının prematüre doğumlarla ilişkili olduğu bulunmuştur. Koryoamniyonit neden olduğu pek çok olumsuz fetal etkisi olması nedeniyle multiorgan hastalığı olarak değerlendirilmelidir. İntraventriküler kanama, serebral palsy, mental retardasyon, periventriküler lökomalazi, fetal gelişme geriliği, respiratuar distress sendromu, psikiatrik hastalıklar, bronkopulmoner displazi, erken neonatal sepsis, prematüre retinopatisi, nekrotizan enterokolit, dermatit vb. gibi pek çok hastalığın koryoamniyonit nedeni oluşabileceği bulunmuştur⁽¹³⁻¹⁵⁾. Koryoamniyonitin klinik bulgu vermeden önce erken tanısı ve tedavisi tüm bu olası olumsuz etkilerinden korunmak için önemlidir.

Tablo I:

	Kontrol Grubu n:25	Çalışma Grubu n:45	
		PEMR n:26	PEMR-HC n:19
Anne yaşı (yıl)	24.8 \pm 3.7	23.5 \pm 3.8	23.2 \pm 2.77
Gravida	2.3 \pm 1.4	2.4 \pm 1.6	2.2 \pm 1.7
Parite	0.96 \pm 0.69	0.943 \pm 0.72	0.923 \pm 0.85
Başvurudaki gebelik haftası (tamamlanmış hafta)	28.1 \pm 1.6	27 \pm 2.2	28.05 \pm 1.8
WBC (/mm ³)	11700 \pm 1340	13600 \pm 1570 ‡	14700 \pm 1480 †*
CRP (mg/l)	0.6 \pm 0.43	8.4 \pm 3.7 ‡	18.3 \pm 3.1 †*
IL-6 (pg/ml)	2.21 \pm 2.41	6.11 \pm 3.33 ‡	14.27 \pm 10.2 †*
IL-33 (ng/ml)	1.22 \pm 1.52	5.22 \pm 1.48 ‡	11.66 \pm 2.1 †*
sST2 (ng/ml)	0.98 \pm 0.52	2.22 \pm 0.96 ‡	7.61 \pm 2.3 †*
sUpar (ng/ml)	0.77 \pm 0.5	6.63 \pm 0.82 ‡	16.9 \pm 2.1 †*

‡p < 0.05: Kontrol vs. PEMR

†p < 0.05: Kontrol vs. PEMR-HC

*p < 0.05: PEMR vs. PEMR-HC

Literatürde koryoamniyonitin serum IL değerleri ile tanısına yönelik yapılmış pekçok çalışma mevcuttur. Gulati ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada IL-6'nın 8 pg/ml üzerinde olduğu durumlarda %82.6 sensitivite ve and %86.3 spesifite oranında koryoamniyonit varlığını desteklediğini, puerperal ve neonatal sepsisle ilişkili olduğunu bulmuşlardır⁽¹⁶⁾. Biz de çalışma sonuçlarımıza dayanarak IL-6'nın koryoamniyonit tanısında kullanılabilir değerli bir belirteç olabileceğini bulduk.

uPAR enfeksiyondan korunmada önemli bir moleküldür. Özellikle lökosit adhezyon ve migrasyonunu tetikleyerek immün defansı güçlendirir⁽¹⁷⁾. Savva ve arkadaşları sepsisli hastalarda yaptıkları çalışmada sepsis tanısı ve ciddiyetinin tahmininde yüksek serum uPAR düzeyleri ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir⁽¹⁸⁾. Kingsmore ve arkadaşları da sepsisli yenidoğanlarda enfeksiyon belirteci olarak 100'den fazla molekül tarayarak uPAR'ın da içinde olduğu 6 molekülün enfeksiyon tanısında erken dönemde kullanılabilir belirteçlerden olduğunu rapor etmişlerdir⁽¹⁹⁾. Biz de çalışmamızda uPAR'ın PEMR'lü olgularda olası koryoamniyonitin erken tanısında IL-6 kadar efektif olduğunu saptadık.

IL-33 IL-1 ailesindedir ve ST2'nin endojen ligandı olarak bilinir, kronik enflamasyonla ilişkili olduğu bilinmektedir. Hoogerwerf ve arkadaşlarının ciddi sepsisli 95 hastada yaptıkları bir çalışmada sST2 düzeylerinin hastalığın şiddeti ile korele olduğunu saptamışlardır⁽²⁰⁾. Alves ve arkadaşlarının sıçanlarla yaptıkları bir çalışmada IL-33 tedavisi yapılan sıçanlarda nötrofil migrasyonunda artış olduğunu ve bakteriyel klirensin tedavi edilmeyenlere oranla daha hızlı olduğunu bulmuşlardır⁽²¹⁾. Biz de çalışmamızda ST2 ve IL-33 ün enfeksiyon varlığında serum düzeylerinde artış olduğunu ve hastalığın erken döneminde belirteç olarak kullanılabilir olduğunu bulduk.

Sonuç olarak çalışmamızın sonuçlarına dayanarak IL-33, IL-6, uPAR ve ST2'nin koryoamniyonit klinik tablosu ortaya çıkmadan erken tanı amaçlı kullanılabilir serum belirteçlerinden olduklarını düşünmekteyiz. Bu konuda daha ileri bilgi edinebilmek için ayrıntılı kohort çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Noor S, Nazar AF, Bashir R, Sultana R. Prevalence of PPROM and its outcome. J Ayub Med Coll Abbottabad 2007 Oct-Dec; 19(4):14-7.
2. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R: Epidemiology and causes of preterm birth. Lancet 2008 Jan 5;371(9606):75-84.
3. Mc Parland PC, Bell SC: The fetal membranes and mechanisms underlying their labour associated and pre-labour rupture during pregnancy. Fetal Matern Med Rev 2004;15:73-108.
4. Trochez-Martinez RD, Smith P, Lamont RF. Use of C-reactive protein as a predictor of chorioamnionitis in preterm prelabour rupture of membranes: a systematic review. Br J Obstet Gynaecol 2007 Jul;114(7):796-801.
5. Barksby HE, Lea SR, Preshaw PM, Taylor JJ. The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders. Clin Exp Immunol 2007 Aug;149(2): 217-25.
6. Moritz DR, Rodewald HR, Gheyselinck J, Klemenz R .The IL-1 receptor related T1 antigen is expressed on immature and mature mast cells and on fetal blood mast cell progenitors. J Immunol 1998 Nov 1;161(9): 4866-74.
7. Jeng L, Yamshchikov AV, Judd SE, Blumberg HM, Martin GS, Ziegler TR et al. Alterations in vitamin D status and antimicrobial peptide levels in patients in the intensive care unit with sepsis. J Transl Med 2009 Apr 23;7:28.
8. Kwak SH, Mitra S, Bdeir K, Strassheim D, Park JS et al. The kringle domain of urokinase-type plasminogen activator potentiates LPS-induced neutrophil activation through interaction with {alpha}V{beta}3 integrins. J Leukoc Biol. 2005 Oct;78(4):937- 45.
9. Ossowski L, Aguirre-Ghiso JA. Urokinase receptor and integrin partnership: coordination of signaling for cell adhesion, migration and growth. Curr Opin Cell Biol 2000 Oct;12(5): 613-20.
10. Sidenius N, Sier CF, Ullum H. Serum level of soluble urokinase- type plasminogen activator receptor is a strong and independent predictor of survival in human immunodeficiency virus infection. Blood 2000 Dec 15;96(13): 4091-5.
11. Redline RW, Faye-Petersen O, Heller D, Qureshi F, Savell V, Vogler C. Society for Pediatric Pathology, Perinatal Section, Amniotic Fluid Infection Nosology Committee. Amniotic infection syndrome: nosology and reproducibility of placental reaction patterns. Pediatr Dev Pathol. 2003 Sep-Oct;6(5): 435-48.

12. Ayhan C, Gurkan K, Bulent K, Hasan CE. Spontan preterm doğum ve preterm prematür membran rüptürü olgularının değerlendirilmesi. *J Turk Soc Obstet Gynecol* 2008;3:182-7.
13. Lawn SD, Myer L, Bangani N, Vogt M, Wood R. Plasma levels of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor (suPAR) and early mortality risk among patients enrolling for antiretroviral treatment in SouthAfrica. *BMC Infect Dis* 2007 May 17;7:41.
14. Shatrov JG, Birch SC, Lam LT, Quinlivan JA,McIntyre S, Mendz G. Chorioamnionitis and cerebral palsy. *Obstet Gynecol* 2010 Aug;116(2 Pt 1):387-92.
15. Williams MC, O'Brien WF, Nelson RN, Spellacy WN. Histologic chorioamnionitis is associated with fetal growth restriction in term and preterm infants. *Am J Obstet Gynecol*. 2000 Nov;183(5):1094-9.
16. Dammann O, Brinkhaus MJ, Bartels DB, Dördelmann M, Dressler F, Kerk J et al. Immaturity, perinatal inflammation, and retinopathy of prematurity: a multi-hit hypothesis. *Early Hum Dev* 2009 May;85(5):325-9.
17. Gulati S, Agrawal S, Raghunandan C, Bhattacharya J, Saili A, Agarwal S et al. Maternal serum interleukin-6 and its association with clinicopathological infectious morbidity in preterm premature rupture of membranes: a prospective cohort study. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2012 Aug;25(8):1428-32.
18. Blasi F, Carmeliet P. uPAR: a versatile signalling orchestrator. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002 Dec;3(12):932-43.
19. Savva A, Raftogiannis M, Baziaka F, Routsis C, Antonopoulou A, Koutoukas P et al. Soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) for assessment of disease severity in ventilator-associated pneumonia and sepsis. *J Infect* 2011 Nov;63(5):344-50.
20. Kingsmore SF, Kennedy N, Halliday HL, Van Velkinburgh JC, Zhong S, Gabriel V et al. Identification of diagnostic biomarkers for infection in premature neonates. *Mol Cell Proteomics* 2008 Oct;7(10):1863-75.
21. Hoogerwerf JJ, Tanck MW, van Zoelen MA, Wittebole X, Laterre PF, van der Poll T. Soluble ST2 plasma concentrations predict mortality in severe sepsis. *Intensive Care Med* 2010 Apr;36(4):630-7.
22. Alves-Filho JC, Sônego F, Souto FO, Freitas A, Verri WA Jr, Auxiliadora-Martins M et al. Interleukin-33 attenuates sepsis by enhancing neutrophil influx to the site of infection. *Nat Med*. 2010 Jun;16(6):708-12.