

Katarzyna Kawka-Paciorkowska

**Ocena skuteczności indukcji porodu po 41. tygodniu
ciąży w zależności od stężenia wybranych hormonów
w ustroju ciężarnej**

Rozprawa doktorska



Klinika Perinatologii i Ginekologii
Katedra Perinatologii i Ginekologii
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Promotor
Prof. dr hab. n. med. Grzegorz H. Bręborowicz

Poznań, 2020 rok

Spis treści

Wykaz rycin	4
Wykaz tabel	5
Wykaz skrótów	6
1. Wstęp	8
1.1. Ciąża po terminie	8
1.1.1. Rys historyczny	8
1.1.2. Definicje	8
1.1.3. Epidemiologia	9
1.1.4. Etiopatogeneza	9
1.1.5. Czynniki ryzyka	10
1.1.6. Powikłania u płodu	10
1.1.7. Powikłania w stanie zdrowia ciężarnej	11
1.2. Preindukcja i indukcja porodu	11
1.2.1. Rys historyczny	11
1.2.2. Definicja i aktualnie obowiązujące wytyczne	13
1.2.3. Protokół postępowania w ciąży po terminie wg PTGiP	14
1.2.4. Powikłania preindukcji i indukcji porodu	15
1.3. Fizjologiczne zmiany hormonalne przebiegające przed porodem	17
1.3.1. Kortykoliberyna	17
1.3.2. Estradiol i progesteron	20
1.4. Znaczenie Całkowitego Statusu Antyoksydacyjnego	22
2. CEL PRACY	24
3. MATERIAŁ	25
3.1. GRUPY	25
3.1.1. Grupa badana	25
3.1.2. Grupa kontrolna	26
4. METODY	26
4.1. Oznaczenie wybranych parametrów z surowicy krwi	27
4.1.1. Oznaczenie wybranych hormonów w surowicy krwi ciężarnej (progesteron, estradiol)	27

4.1.2.	Oznaczenie CRH	27
4.1.3.	Oznaczenie TAS.....	27
4.2.	Oznaczenie jakościowe stężenia kortykoliberyny oraz receptorów dla estradiolu, progesteronu, kortykoliberyny w łożysku	28
4.3.	Analiza statystyczna	29
5.	WYNIKI	30
5.1.	Charakterystyka analizowanych grup	30
5.2.	Kortykoliberyna	31
5.2.1.	Stężenie kortykoliberyny w surowicy krwi ciężarnej	31
5.2.2.	Jakościowa ocena ilości kortykoliberyny w łożysku po porodzie.....	32
5.2.3.	Jakościowa ocena ilości receptorów dla kortykoliberyny w łożysku po porodzie.....	33
5.3.	Estradiol.....	35
5.3.1.	Stężenie estradiolu w surowicy krwi ciężarnej	35
5.3.2.	Jakościowa ocena ilości receptorów estrogenowych beta w łożysku po porodzie.....	36
5.4.	Progesteron	37
5.4.1.	Stężenie progesteronu w surowicy krwi ciężarnej.....	37
5.5.	Całkowity Status Antyoksydacyjny (TAS)	38
5.5.1.	Stężenie TAS w surowicy krwi ciężarnej	38
5.6.	Stężenia kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a skuteczność preindukcji oraz indukcji	39
5.7.	Stężenia kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a ilość wykonanych preindukcji oraz czas który upłynął do uzyskania skutecznej indukcji porodu.....	39
5.8.	Stężenia kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a konieczność zastosowania oksytocyny celem indukcji porodu, bądź stymulacji czynności skurczowej podczas porodu	40
5.9.	Stężenia kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a sposób ukończenia ciąży	41
5.10.	Stężeniami kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a czas trwania poszczególnych okresów porodu	42
5.10.1.	I okres porodu	42

5.10.2.	II okres porodu	43
5.10.3.	III okres porodu	43
6.	DYSKUSJA.....	44
6.1.	Kortykoliberyna	44
6.2.	Estradiol.....	46
6.3.	Progesteron	49
6.4.	Całkowity Status Antyoksydacyjny	51
6.5.	Stężeniami kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a skuteczność preindukcji oraz indukcji	52
6.6.	Stężeniami kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a ilość wykonanych preindukcji oraz czas który upłynął do uzyskania skutecznej indukcji porodu.....	53
6.7.	Stężeniami kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a konieczność zastosowania oksytocyny celem indukcji porodu, bądź stymulacji czynności skurczowej podczas porodu.	53
6.8.	Stężenia kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a sposób ukończenia ciąży	54
6.9.	Stężenia kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a czas trwania poszczególnych okresów porodu.	54
7.	WNIOSKI	56
8.	STRESZCZENIE	57
9.	SUMMARY	60
10.	PIŚMIENNICTWO	63

Wykaz rycin

Rycina 1. Hipotetyczna koncepcja regulacji wydzielania estrogenów i progesteronu przez CRH oraz urokortyny w ludzkim łożysku.	18
Rycina 2. Pętle dodatniego sprzężenia zwrotnego CRH działające pomiędzy płodem, łożyskiem a macicą.	20
Rycina 3 . Ocena wybarwienia preparatów łożyska przeciwciałami monoklonalnymi w kierunku obecności kortykoliberyny.	32
Rycina 4. Ocena wybarwienia preparatów łożyska przeciwciałami monoklonalnymi w kierunku obecności receptora 1 dla kortykoliberyny.	33
Rycina 5. Ocena wybarwienia preparatów łożyska przeciwciałami monoklonalnymi w kierunku obecności receptora 2 dla kortykoliberyny.	34
Rycina 6. Rozkład wartości stężenia estradiolu w ustroju ciężarnej w poszczególnych grupach.	35
Rycina 7. Rozkład wartości stężenia estradiolu w ustroju ciężarnej u pacjentek wymagających zastosowania preindukcji lub indukcji porodu w stosunku do grupy w której poród rozpoczął się samoistnie.	36
Rycina 8. Ocena wybarwienia preparatów łożyska przeciwciałami monoklonalnymi w kierunku obecności receptora estrogenowego beta.	37
Rycina 9. Wartości stężenia TAS w ustroju ciężarnej u pacjentek wymagających zastosowania preindukcji lub indukcji (interwencja), w stosunku do grupy w której poród rozpoczął się samoistnie.	38
Rycina 10. Zależność między czasem trwania I okresu porodu, a wartościami stężenia progesteronu w ustroju ciężarnych z grupy badanej.	42
Rycina 11. Zależność między czasem trwania II okresu porodu, a wartościami stężenia progesteronu w ustroju ciężarnych z grupy badanej.	43
Rycina 12. Uproszczony schemat ekspresji receptorów estrogenowych alfa i beta podczas asymetrycznego podziału i różnicowania komórek trofoblastu w łożysku.	49

Wykaz tabel

Tabela 1. Ocena dojrzałości szyjki macicy w skali Bishopa	14
Tabela 2. Schemat dawkowania oksytocyny w stymulacji czynności skurczowej macicy.	15
Tabela 3. Charakterystyka grup badanych.....	30
Tabela 4. Charakterystyka grup badanych c.d.....	31
Tabela 5. Wyniki stężeń badanych hormonów w ustroju ciężarnych z grup badanych.	31
Tabela 6. Wyniki jakościowej oceny ilości kortykoliberyny w badanych grupach.	32
Tabela 7. Wyniki jakościowej oceny ilości receptora 1 dla kortykoliberyny w badanych grupach.	33
Tabela 8. Wyniki jakościowej oceny ilości receptora 2 dla kortykoliberyny w badanych grupach.	34
Tabela 9. Wyniki jakościowej oceny ilości receptora estrogenowego beta w badanych grupach.	37
Tabela 10. Wyniki stężeń hormonalnych w ustroju ciężarnych z grupy badanej, która wymagała preindukcji lub indukcji po zakończonym 41. tygodniu ciąży.	39
Tabela 11. Wyniki stężeń hormonalnych w ustroju ciężarnych z grupy badanej, która wymagała preindukcji lub indukcji po zakończonym 41. tygodniu ciąży, w zależności od konieczności oraz krotności podawania oksytocyny celem indukcji porodu.	40
Tabela 12. Wyniki stężeń hormonów w ustroju ciężarnych z grupy badanej, która wymagała preindukcji lub indukcji po zakończonym 41. tygodniu ciąży, w zależności od sposobu ukończenia ciąży.	41

Wykaz skrótów.

ABTS - sulfonian 2,2'etylobenzotiazoliny

ACOG - *American College of Obstetricians and Gynecologists* - Amerykańskie Kolegium Położników i Ginekologów

ACTH - *adrenocorticotropic hormone* - adrenokortykotropina

BMI - *body mass index* – indeks masy ciała

CAPs – *contraction associated proteins* – białka związane ze skurczem

CC – cięcie cesarskie

CRH – *corticotropin releasing hormone* – kortykoliberyna

CRH-BP – *corticotropin releasing hormone binding protein* - białko wiążące kortykoliberynę

CRH-R – *corticotropin releasing hormone receptor* - receptor dla kortykoliberyny

CRL – *crown-rump length* – długość ciemieniowo siedzeniowa

CYP 17 – *cytochrome P450c17alpha gene* – cytochrom P450c17alfa

DHEA – *dehydroepiandrosterone* – dehydroepiandrosteron

GPCRs – *G – protein – coupled receptors* - białka transbłonowe sprzężone z białkiem-G

MMP-9 – *metalloproteinase 9* - metaloproteinaza 9

NADPH – *nicotinamide adenin dinucleotide phosphate* - dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy

NICE – *National Institute for Health and Care Excellence* – Narodowy Instytut Zdrowia i Poprawy Opieki Zdrowotnej (Wielkiej Brytanii)

PAF – *platelet activating factor* - czynnik aktywujący płytki,

PGE2 – prostaglandyna E2

PGs – *prostaglandins* - prostaglandyny

PKA – *protein kinase A* - kinaza proteinowa A,

PKC – *protein kinase C* - kinaza proteinowa C

PLCB3 – *phospholipase B3* - Fosfolipaza B3

PSN – poród siłami natury

PTGiP - Polskie Towarzystwo Ginekologów i Położników

ROS - *reactive oxygen species* - reaktywne formy tlenu

SHBG – *sex hormone binding globulin* – glikoproteina wiążąca hormony płciowe

SOGC - *Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada* – Kanadyjskie Towarzystwo Ginekologów i Położników

TAS – *total antioxidant status* - Całkowity Status Antyoksydacyjny

VE – *vacuum extractor* - wyciągacz próżniowy

UCN – *urocortin* - urokortyna

1. Wstęp

1.1. Ciąża po terminie

1.1.1. Rys historyczny

Problem ciąży przeterminowanej istnieje już od początku naszej ery. Pierwsza udokumentowana obserwacja takiej ciąży należy do cesarza rzymskiego Hadriana, który żył w latach 76-138. Zaobserwował on, że niektóre nienagannego obycia kobiety rodziły dzieci 11 miesięcy po stracie męża. Po konsultacji z ówczesnymi medykami i mędrkami, uznano taki stan za prawnie i medycznie możliwy (1). Pierwszym, który ze względów neonatologicznych, zwrócił uwagę na ciążę po terminie był Ballantyne'a, który to w 1902 roku napisał artykuł „Problem noworodków przeterminowanych” (*The problem of the postmature infants*). Już wówczas zauważył, że „pośpiech jest zły, ale opóźnienie jest również często złe” (2). Następnie w latach 40. ubiegłego wieku Calkins kwestionował istnienie ciąży przeterminowanej (3). Dopiero w 1954 roku Stewart H. Clifford ponownie podkreślił znaczenie ciąży przeterminowanej w zachorowalności i umieralności noworodków; opisał on również rozpoznawalne klinicznie cechy noworodków urodzonych z ciąż przeterminowanych (1).

1.1.2. Definicje

Ciąża po terminie jest definiowana jako ciąża, która trwa do lub powyżej 42. tygodni licząc od pierwszego dnia ostatniej miesiączki lub 14 dni powyżej terminu porodu wyznaczonego na podstawie badania ultrasonograficznego z I trymestru (4). Podkreśla się znaczenie weryfikacji wieku ciążowego w oparciu o badanie ultrasonograficzne z I trymestru, które powinno zostać wykonane u każdej kobiety ciężarnej. W aspekcie określenia wieku ciążowego, za okres najbardziej adekwatnego pomiaru ultrasonograficznego długości ciemieniowo-siedzeniowej (CRL) uznaje się od 11. do 14. tygodnia ciąży. Dopuszczalna rozbieżność pomiędzy tygodniem ciąży wynikającym z daty ostatniej miesiączki a badaniem ultrasonograficznym to 7 dni. Jeżeli wartość jest większa, za prawidłowy tydzień ciąży należy przyjąć zgodny z CRL.

1.1.3. Epidemiologia

Częstość występowania ciąży po terminie zależy od charakterystyki populacji i w zależności od piśmiennictwa waha się od 4 do 19% (5). Dokładne oszacowanie częstości występowania jest trudne ze względu na zalecenia różnych towarzystw naukowych (*Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada* - SOGC, Polskie Towarzystwo Ginekologów i Położników - PTGiP, *National Institute for Health and Care Excellence* - NICE) sugerujących indukowanie porodu po 41. tygodniu ciąży, z powodu zwiększonego ryzyka wystąpienia powikłań płodowych po tym czasie (5).

1.1.4. Etiopatogeneza

Etiopatogeneza ciąży po terminie nie została w pełni poznana. Wśród wielu czynników podkreśla się znaczenie genetyki, zaburzeń endokrynologicznych, a w nowych badaniach również stresu oksydacyjnego oraz obecności leukocytów w szyjce macicy (5).

Różne badania (w tym największe Laursen i wsp.) analizujące czynnik genetyczny w etiopatogenezie ciąży po terminie podkreślają jego znaczenie aż w 50%, przy czym jest on związany przede wszystkim z matką, ale i również ojcem oraz płodem (6, 7, 8).

Najbardziej rozległym i różnorodnym obszarem potencjalnej etiopatogenezy ciąży po terminie są zaburzenia endokrynologiczne. Dopatruje się tutaj zaburzeń pochodzenia ośrodkowego - osi podwzgórze-przysadka-nadnercza, ale i również pochodzenia łożyskowego – synteza CRH, estrogenów i progesteronu. Jak dotąd udowodniono, że w ciąży po terminie wykładniczy wzrost stężenia CRH zostaje przesunięty na stronę prawą, czyli rozpoczyna się on w późniejszym tygodniu ciąży. Ponadto występuje mniejszy wzrost stężenia estrogenów, wynikający ze zmniejszonej ich produkcji łożyskowej oraz brak funkcjonalnego spadku stężenia progesteronu (9).

Wśród nowych czynników wskazuje się na rolę reakcji zapalnej zachodzącej w szyjce macicy z uwzględnieniem migracji leukocytów celem doprowadzenia do jej dojrzałości. Leukocyty produkując PAF (czynnik aktywujący płytki), który to odpowiada za przebudowę komórek oraz będące głównym źródłem MMP-9 (metaloproteinaza 9), która to jest substratem dla kolagenaz przyczyniają się do całkowitej przebudowy szyjki macicy

w odpowiedzi na prostaglandyny. Zmniejszona migracja leukocytów do szyjki macicy, powoduje nieprawidłową odpowiedź na prostaglandyny odpowiadające za jej przygotowanie i dojrzewanie co może skutkować wydłużeniem czasu trwania ciąży (5, 10).

Powiększające się łożysko jest głównym źródłem wolnych rodników, a tym samym stresu oksydacyjnego oraz antyoksydantów. Stąd wraz ze wzrostem tygodnia ciąży, zwiększa się stres oksydacyjny. Mimo, iż mechanizm wpływu stresu oksydacyjnego na inicjację porodu nie został jeszcze poznany, zaobserwowano, że nie wzrasta on w ciąży po terminie, stąd mechanizmy przyczyniające się do wystąpienia porodu nie występują, a sam poród jest opóźniony (11).

1.1.5. Czynniki ryzyka

Ogólnie przyjętymi czynnikami ryzyka ciąży po terminie są:

- pierworództwo;
- ciąża po terminie w wywiadzie położniczym;
- otyłość przedciążowa (wyrażona w BMI);
- ciąża po terminie u matki i/lub sióstr;
- wiek ciężarnej powyżej 35 roku życia;
- płeć męska płodu (11)

1.1.6. Powikłania u płodu

Do najczęstszych powikłań płodowych zaliczamy:

- obumarcie wewnątrzmaciczne;
- zespół aspiracji smółki;
- wykładniki przenoszenia (sucha, łuszcząca się skóra; długi, chudy tułów; „stary i zmartwiony” wyraz twarzy; „ręce praczeki” – pomarszczona skóra dłoni i stóp; długie paznokcie);
- mniejsza objętość płynu owodniowego;

- częstsze nieprawidłowe wartości parametrów równowagi kwasowo-zasadowej z krwi pępowinowej i/lub wartości punktacji wg. Apgar po porodzie;
- makrosomia;
- dystocja barkowa.

1.1.7. Powikłania w stanie zdrowia ciężarnej

Do najczęstszych powikłań matczynych zaliczamy:

- dystocja szyjkowa (brak postępu porodu);
- urazy okołoporodowe takie jak krwaki, pęknięcia pochwy oraz krocza;
- operacyjne ukończenie ciąży drogą pochwową;
- zwiększone ryzyko ukończenia ciąży cięciem cesarskim.

1.2. Preindukcja i indukcja porodu

1.2.1. Rys historyczny

Indukcja porodu jest jedną z najstarszych interwencji w położnictwie. Pierwsze doniesienia pojawiły się już w starożytnej Grecji, gdzie indukowano porody u kobiet z wąską miednicą, żeby zapobiec nadmiernemu wzrostowi płodu. Hipokrates zalecał dwie metody indukcji. Pierwsza z nich to stymulacja brodawek sutkowych, obecnie mniej popularna, ale nadal stosowana. Druga metoda uwzględniała zaobserwowany przez Hipokratesa sposób zstępowania główki w kanale rodny. Zalecano, aby kobieta ciężarna siadała na gałęzi drzewa, którą to potrząsano w określony sposób (12).

Kolejną postacią próbującą pomóc w przyspieszeniu porodu był Soranus z Efezu, który około 100. roku n.e. opisywał liczne zabiegi mogące wywołać poród. Wśród nich znajdziemy: amniotomię, opróżnienie pęcherza moczowego, wykonanie lewatywy z oliwy, wody i miodu, dopochwowe aplikowanie białek z jaja kurzego celem rozluźnienia i zmiękczenia szyjki macicy, aż wreszcie ręczne rozszerzanie szyjki macicy (12,13).

W kolejnych stuleciach udoskonalano powyższe metody. Dopiero pod koniec XIX wieku udokumentowano powstanie wielu przyrządów, których zasada działania opierała się na rozszerzaniu szyjki macicy za pomocą balonu. Pierwszy opis użycia zwykłego cewnika Foleya pojawił się w 1890 roku i został wykorzystany przez profesora położnictwa z Leiden, Hectora Treuba (14). Następnie w 1947 Kloosterman opisał cewnikowanie szyjki jako najbardziej efektywnego sposobu indukcji, jednakże wówczas stosowano 500ml płynu do jego wypełnienia, a nie 30-80ml, jak obecnie. Podanie tak dużej objętości płynu sprzyjało przemieszczaniu się części przodującej oraz wypadnięciu pępowiny (15).

W tym samym czasie trwały rozliczne badania nad opracowaniem substancji mogącej wywołać lub nasilić czynność skurczową macicy. Przełomem był rok 1948, kiedy to Theobald wraz z współpracownikami po raz pierwszy zastosowali oksytocynę we wlewie kroplowym. Niestety dawki leku były zdecydowanie większe od obecnych, co wiązało się z występowaniem częstszych powikłań (16). Natomiast nowa era indukcji porodów rozpoczęła się w 1953 roku wraz z wytworzeniem syntetycznej oksytocyny przez Vigneauda, za co otrzymał nagrodę Nobla (17).

Kamieniem milowym w ewolucji sposobów indukcji, a raczej preindukcji porodu, było wykorzystanie prostaglandyn do przyspieszenia dojrzałości szyjki macicy. Dwóch ginekologów z Nowego Jorku, Raphael Kurzoak i Charles C. Lieb w 1930 roku odkryli, że świeża sperma zaaplikowana na preparat mięśniówki macicy powoduje jej skurcze (18). W 1935 roku Von Euler nazwał tę substancję prostaglandynami (19). Pierwsze doniesienia odnośnie użycia prostaglandyn do indukcji porodu sięgają 1968 roku, kiedy to Karim wraz ze współpracownikami indukowali poród za pomocą prostaglandyny F2alfa podanej dożylnie. W tamtym okresie wierzono, że prostaglandyna E2 działa rozluźniająco na mięśniówkę macicy (20). Calder i Embrey w 1973 roku stwierdzili, że PGE2 zmiękcza i rozwiera szyjkę macicy. Jako pierwsi, za pomocą cewnika Foleya umieszczonego w szyjce macicy i wypełnionego 50ml płynu, wprowadzili do przestrzeni nad ujściem wewnętrznym szyjki macicy PGE2 (21).

1.2.2. Definicja i aktualnie obowiązujące wytyczne

Preindukcja to działania wykonywane na nieprzygotowanej do porodu szyjce macicy, celem uzyskania jej dojrzałości. Wśród metod preindukcji porodu wymienia się aplikację prostaglandyny E1 (mizoprostol) lub E2 (dinoproston) oraz doszyjkowe założenie cewnika Foleya lub cewnika dwubalonowego Cooka wypełnionego 30-80ml płynu.

Indukcja to działania wykonywane celem wywołania czynności skurczowej macicy oraz rozpoczęcia porodu. Efekt ten uzyskuje się poprzez podaż oksytocyny dożylnie, we wlewie kroplowym bądź w pompie. Niekiedy, przy korzystnych warunkach położniczych jakimi jest przyparta główka płodu oraz napięty pęcherz płodowy, możliwe jest wykonanie najpierw amniotomii z lub bez następowego wlewu z oksytocyną.

Z racji tego, że warunkiem efektywnej indukcji porodu jest dojrzałość szyjki macicy, to właśnie preindukcja stanowi najważniejszy czynnik rokowniczy skutecznej indukcji. Badanie palpacyjne szyjki macicy jest badaniem subiektywnym. W celu obiektywizacji tego badania wykorzystuje się skalę Bishopa (tabela 1), która uwzględnia rozwarcie szyjki, jej skrócenie, konsystencję, stosunek osi szyjki do osi pochwy oraz stosunek części przodującej do linii międzykolkowej. Uzyskanie 5 punktów i mniej na 10 możliwych, oznacza brak dojrzałości szyjki macicy.

Do oceny szansy na skuteczną indukcję, można wykorzystać ultrasonografię, w której to mierzy się długość szyjki macicy głowicą transwaginalną. Długość szyjki poniżej 25mm jest dobrym prognostykiem porodu siłami natury po indukcji. Należy podkreślić, że brak dojrzałości szyjki macicy w ciąży po terminie waha się od 40 do 92% (5,22).

Skuteczna indukcja została zdefiniowana jako poród siłami natury w ciągu 24 godzin od jej rozpoczęcia (23,24). Choć definicja traktuje o indukcji *de facto* w badaniach klinicznych, to pojęcie to jest używane w stosunku do zarówno preindukcji jak i indukcji porodu.

Tydzień ciąży, w którym powinno się rozpocząć działania mające na celu pobudzenie czynności skurczowej, wciąż stanowi temat dyskusji. Amerykańskie Towarzystwo Ginekologów i Położników (ACOG) zaleca wywoływanie porodu po ukończonym 42 tygodniu, a od 41 intensywny nadzór nad płodem, natomiast zgodnie z rekomendacjami Polskiego,

Kanadyjskiego oraz Brytyjskiego Towarzystwa Ginekologicznego (PTGiP, SOGC oraz NICE) indukcję należy rozpocząć między 41 a 42 tygodniem ciąży. Ponadto SOGC i PTGiP uzasadniają takie postępowanie spadkiem śmiertelności okołoporodowej bez wzrostu ryzyka porodu przez cięcie cesarskie (25, 26, 27, 22). W Polsce zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 16 sierpnia 2018 roku, od 1. stycznia 2019 roku, nie ma obowiązku hospitalizacji pacjentki po 41 tygodniu ciąży, decyzja o czasie w którym ciężarna powinna być skierowana do szpitala jest podejmowana przez lekarza prowadzącego w zależności od stanu kobiety i płodu (28).

Tabela 1. Ocena dojrzałości szyjki macicy w skali Bishopa

Parametr	Punkty		
	0	1	2
Rozwarcie [cm]	0	1-2	3-4
Zgładzenie [%]	0-30	40-50	60-70
Konsystencja	Twarda	Pośrednia	Miękka
Ustawienie*	Do tyłu	Pośrednie	Do przodu
Punkt przodujący	-3	-2	-1

*Ustawienie oznacza stosunek szyjki macicy do kości krzyżowej

1.2.3. Protokół postępowania w ciąży po terminie wg PTGiP (22)

W 2017 roku Polskie Towarzystwo Ginekologów i Położników wydało rekomendacje traktujące o indukcji porodu. Pierwszy etap to odpowiednia kwalifikacja pacjentki do preindukcji lub indukcji porodu. Czynnikiem decydującym jest ocena dojrzałości szyjki macicy w skali Bishopa (opis powyżej). Przy nieprzygotowanej szyjce macicy pacjentka zostaje zakwalifikowana do farmakologicznej lub mechanicznej preindukcji porodu. Metaanaliza z 2012 roku, która znajduje się w bazie Cochrane (29), nie wykazała wyższości żadnej z metod preindukcji, przy porównywalnym ryzyku cięcia cesarskiego i mniejszym ryzyku hiperstymulacji macicy na rzecz cewnika Foleya. W przypadku dojrzałej szyjki macicy lub po preindukcji porodu, wskazane jest zastosowanie oksytocyny według jednego z dwóch schematów dawkowania (tabela 2).

Tabela 2. Schemat dawkowania oksytocyny w stymulacji czynności skurczowej macicy (22).

Schemat	Dawka początkowa [mU/min]	Przyrost dawki [mU/min]	Odstęp między kolejnymi dawkami [min]
Małe dawki	0.5 - 2	1 - 2	15 - 40
Duże dawki	6	3 - 6	15 - 40

Wytyczne PTGiP nie ustosunkowują się do ilości preindukcji, bądź czasu w jakim powinny one być przeprowadzone. Nie ma tam również informacji odnośnie ilości stymulacji czynności skurczowej oksytocyną oraz przez jak długi czas podczas takiej stymulacji powinien być ten lek stosowany.

1.2.4. Powikłania preindukcji i indukcji porodu (22)

Powikłania matczyne farmakologicznej indukcji i preindukcji porodu:

- reakcje nadwrażliwości na preparat;
- spadek lub wzrost ciśnienia tętniczego w przypadku oksytocyny;
- zaburzenia rytmu serca;
- zatrucie wodne (oksytocyna);
- hiperstymulacja macicy;
- pęknięcie macicy, w szczególności u wieloródek i pacjentek po wcześniejszych interwencjach na mięśniu macicy;
- przedwczesne oddzielenie łożyska;
- nasilony krwotok poporodowy (oksytocyna)

Powikłania płodowe i noworodkowe farmakologicznej indukcji i preindukcji porodu:

- zaburzenia czynności serca;
- kwasica;
- zmniejszona zdolność przeżycia noworodków, obniżona punktacja w skali Apgar (<7);
- trwałe uszkodzenie OUN;
- zamartwica;
- śmierć w wyniku niedotlenienia.

Powikłania stosowania cewnika Foleya:

- uraz szyjki macicy;
- ostra reakcja gorączkowa;
- ból;
- krwawienie z pochwy;
- zmiana ułożenia lub położenia płodu (30).

Powikłania amniotomii:

- wypadnięcie pępowiny;
- wypadnięcie części drobnych płodu;
- ostre niedotlenienie płodu;
- uszkodzenie płodu;
- nieprawidłowe wstawianie się główki;
- zakażenie wewnątrzmaciczne.

1.3. Fizjologiczne zmiany hormonalne przebiegające przed porodem

1.3.1. Kortykoliberyna (CRH)

Kortykoliberyna to wielopeptydowy neuroprzekaźnik i hormon związany z odpowiedzią organizmu na stres. Do tej grupy neuroprzekaźników należą również urokortyny (UCNs – UCNI, UCNII, UCNIII), których rola nie została jeszcze w pełni poznana, ale są one potencjalnymi agonistami receptorów dla CRH (CRH-R) (31). Udowodniono, że CRH oraz urokortyny wpływają na implantację zarodka (32), jak również biorą udział w mechanizmach prowadzących do rozpoczęcia akcji porodowej i porodu noworodka, w zgodzie z koncepcją oddziaływania „mózg-macica” w kontroli fizjologii przebiegu ciąży (31).

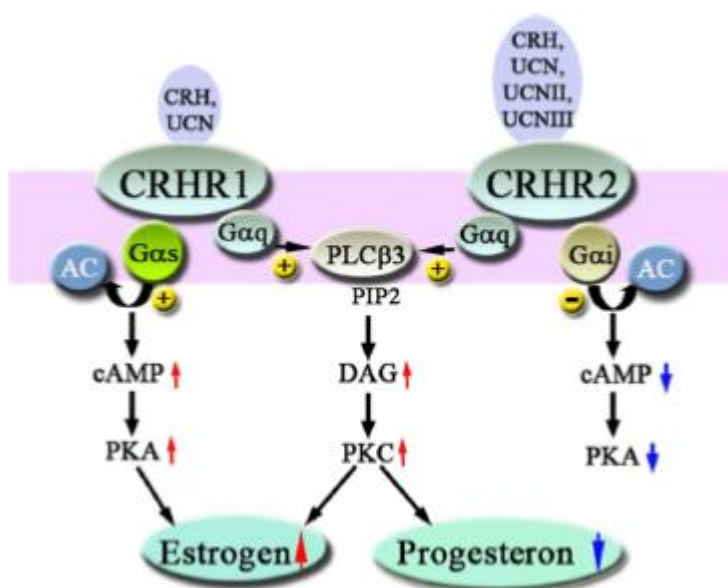
Obecność CRH w łożysku została potwierdzona w latach osiemdziesiątych ubiegłego stulecia (33). W trakcie ewolucji, łożyskowy system CRH został zachowany bądź też powstał *de novo* u ssaków naczelnych, żeby wpływać na fizjologiczny mechanizm porodowy (30). Podczas ciąży łożysko oraz błony płodowe są głównym źródłem produkcji i wydzielania CRH. Wydzielanie to jest autonomiczne, niezależne od osi podwzgórze-przysadka-jajnik, ale stan matki i płodu mogą na nie wpływać (34).

Kortykoliberyna stanowi niejako *”biologiczny zegar ciąży”*, określający czas jej trwania. Zaobserwowano wykładniczy wzrost stężenia CRH wraz z czasem trwania ciąży z pikiem wzrostowym tuż przed porodem (35). Krzywa wykładnicza wzrostu CRH jest przesunięta na lewo u kobiet rodzących przed czasem, natomiast na prawo u tych, które rodzą po terminie (36). Oznacza to, że kobiety, które rodzą przedwcześnie, mają wyższe stężenia śródciażowego CRH niż te, które rodzą o czasie i odwrotnie w przypadku ciąży po terminie, wartości te są niższe (37). Stężenie kortykoliberyny pozostaje stałe podczas porodu (38). Po porodzie siłami natury bądź cięciu cesarskim, stężenie CRH w surowicy krwi matki spada do 50% wartości przedporodowej już po 20-30 min i wraca do wartości przedciążowych w ciągu 1-5 dni po porodzie (39).

Do znacznego wzrostu stężenia kortykoliberyny przyczyniają się między innymi białka wiążące CRH (CRH-BP). CRH-BP są produkowane głównie przez wątrobę i łożysko, a w mniejszej ilości przez doczesną oraz błony płodowe (40). Stężenie CRH-BP pozostaje stabilne u kobiet

nie ciężarnych i do 3 trymestru ciąży. Ich stężenie nieznacznie spada między 26 a 30 tygodniem ciąży, a następnie odnotowuje się znaczący i gwałtowny spadek w ostatnich 4-6 tygodniach przed porodem (41, 42, 43). Po porodzie w ciągu 24 godzin, stężenie CRH-BP wraca do normy (34). Dzięki powyższemu mechanizmowi umożliwiony jest wzrost stężenia wolnego, niezwiązanego z białkiem, a tym samym czynnego biologicznie CRH.

Kortykoliberyna wraz z urokortynami wiąże się z receptorami dla kortykoliberyny (CRH-R), prezentowanymi na błonie komórkowej komórek docelowych. CRH-R należą do białek transbłonowych sprzężonych z białkiem-G (GPCRs), które poprzez łączenie z agonistami, przekazują sygnały do komórki (31, 44). Komórki ludzkiego łożyska zawierają oba podtypy receptorów dla CRH, a mianowicie R1 i R2 (45, 46). CRH-R1 stymuluje Gs i Gq ścieżkę sygnałową, podczas gdy CRH-R2 aktywuje drogę Gi i Gq (44). Stymulacja ścieżki związanej z białkiem Gs powoduje wzrost wydzielania estrogenów, stymulacja ścieżki Gq powoduje zarówno wzrost wydzielania estrogenów jak i spadek sekrecji progesteronu. (Ryc. 1.)



Rycina 1. Hipotetyczna koncepcja regulacji wydzielania estrogenów i progesteronu przez CRH oraz urokortyny w ludzkim łożysku. (47)

PKA – kinaza proteinowa A, PKC – kinaza proteinowa C, PLCB3 – fosfolipaza B3 (47).

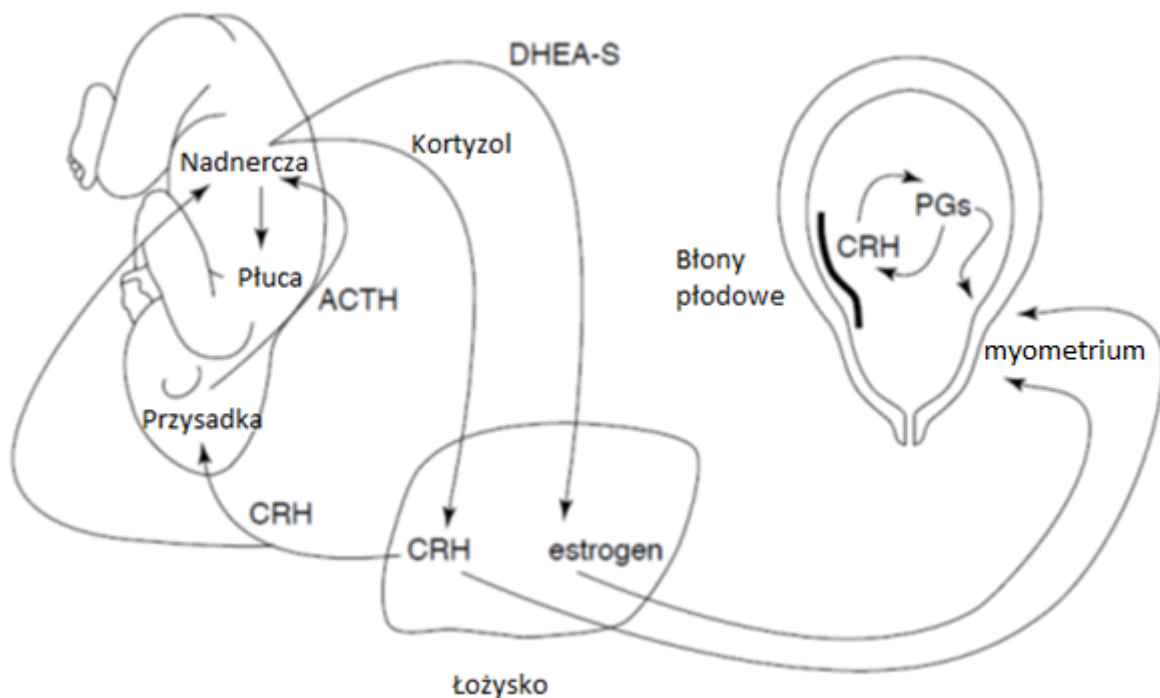
Inną tkanką, na którą wpływa CRH jest myometrium (błona mięśniowa macicy), która zawiera funkcjonalne receptory dla CRH obu typów R1 i R2 (31). W większości piśmiennictwa mówi się o odmiennej roli obu tych receptorów w mięśniówce macicy, a mianowicie CRH-R1 powoduje jej relaksację, CRH-R2 natomiast powoduje wzrost kurczliwości mięśni gładkich macicy (48). Efekt działania CRH-R1 zanika wraz z rozpoczęciem czynności skurczowej macicy, poprzez *down-regulation* białek sygnalizujących (białek G). Ostatnie badania wykazują wzrost CRH-R1s w dolnych odcinkach macicy w momencie rozpoczęcia porodu, co kwestionuje hipotezę czystego rozdziału receptorów R1 i R2 oraz ich ról (49).

W terminie porodu, receptory dla CRH są modulowane przez uterotoniny, takie jak np. oksytocyna. Kiedy myometrium jest przygotowane na aktywny poród, następuje znaczące zwiększenie obecności receptorów oksytocynowych, powodując wzrost odpowiedzi myometrium na oksytocynę (50).

Glikokortykoidy, które w sprzężeniu zwrotnym osi podwzgórze-przysadka-nadnercza, hamują wydzielanie CRH, w łożysku wykazują odmienny mechanizm stymulując jej wydzielanie (51). Ponadto produkcja łożyskowego CRH jest hamowana przez estrogeny, progesteron oraz tlenek azotu, natomiast dodatkowo stymulowana przez wiele neuropeptydów (34). Niedawne badania wykazały, że po podaniu prostaglandyn w celu indukcji porodu zwiększa się ilość aktywnej biologicznie CRH poprzez wzrost CRH w matczynej surowicy oraz spadek ilości krążącego CRH-BP, co może przyczyniać się do rozpoczęcia aktywnej czynności porodowej (51).

CRH krążące w surowicy krwi płodu jest prawie wyłącznie pochodzenia łożyskowego, a jego poziom jest 50% mniejszy niż w matczynej surowicy (53). Podczas ciąży CRH (i możliwe, że także urokortyny) wpływa również na tkanki płodu, włączając nadnercza (35, 44). Dostępne dowody sugerują, że wzrastające ilości łożyskowego CRH stymulują nadnercza płodu bezpośrednio (54) lub pośrednio poprzez stymulację osi przysadka-nadnercza, powodując wydzielanie ACTH przez przysadkę płodu (55). Płodowa oś przysadka-nadnercza, wydaje się być już dojrzała podczas II trymestru ciąży (53). Skutkuje to zwiększonym wydzielaniem steroidów nadnerczowych płodu i prowadzi do dojrzewania płuc płodu

w sposób zsynchronizowany z rozpoczęciem porodu. Równoczesne dojrzewanie płodu i przygotowanie macicy jest osiągnięte najprawdopodobniej przez pobudzenie receptorów dla CRH – CRH-1 w nadnerczach płodu, prowadząc do wzrostu kortyzolu oraz DHEAS, co z kolei jest wykorzystywane do dalszej stymulacji wydzielania CRH oraz produkcji estrogenów przez łożysko (56). Działanie to może być zwielokrotnione poprzez CRH, które indukuje ekspresję receptorów dla ACTH, które mogą zwiększać wrażliwość nadnerczy płodowych na krążące ACTH i przyczyniać się do późno ciążowego wzrostu wydzielania kortyzolu przez nadnercza płodu (57) (Ryc. 2).



Rycina 2. Pętle dodatniego sprzężenia zwrotnego CRH działające pomiędzy płodem, łożyskiem a macicą. Celem powyższego mechanizmu jest doprowadzenie do porodu żywego płodu (58).

1.3.2. Estradiol i progesteron

Estrogeny to grupa hormonów płciowych, do których zalicza się trzy główne postacie estrogenu naturalnie występujące u kobiet t.j. estron (E1), estradiol (E2) i estriol (E3). Estrogeny są wytwarzane z cholesterolu jak wszystkie hormony steroidowe, a bezpośrednim substratem do ich syntezy przy użyciu aromatazy jest androstendion i testosteron.

W osoczu występują w formie związanej z albuminą lub globuliną wiążącą steroidy płciowe (SHBG).

CRH, który wykazuje wykładniczy wzrost wraz ze wzrostem czasu trwania ciąży, stymuluje produkcję enzymów do produkcji estrogenów, natomiast hamuje enzymy potrzebne do syntezy progesteronu (59, 60). Wzrost poziomu estrogenu w surowicy krwi kobiety ciężarnej odgrywa istotną rolę w rozpoczęciu porodu, powoduje on zmianę aktywności myometrium ze stanu spoczynku do stanu kurczliwego poprzez stymulację białek związanych z czynnością skurczową (CAPs), takich jak koneksyna 43, receptor oksytocynowy, receptory prostaglandynowe (61, 62). Spadek stężenia progesteronu jest wspierany przez indukcję P450 c17 hydroksylazy, która przekształca progesteron w c19 steroidy, substraty dla aromatazy w syntezie estrogenów (63). Jeszcze do 2007 roku uważano, że w łożysku nie ma cytochromu P450 c17 alfa (CYP 17), stąd nie jest możliwe produkowanie estrogenów *de novo*, ale w 2011 roku Escobar i wsp. udowodnili, że łożysko posiada CYP 17 i produkuje androgeny *de novo* (64).

Kortyzol zwiększa produkcję estrogenów poprzez zwiększenie ekspresji aromatazy w komórkach syncytiotrofoblastu znajdującego się w łożysku (65).

Progesteron utrzymuje stan rozluźnienia mięśniówki macicy poprzez:

- hamowanie produkcji CAP (białek związanych ze skurczami) takich jak koneksyna 43;
- redukcję ekspresji receptorów dla oksytocyny oraz receptora F2a dla prostaglandyn;
- regulację kanałów jonowych pozostających wewnątrz myometrium (66).

Podczas porodu matczyne, płodowe i owodniowe stężenie progesteronu jest podwyższone w stosunku do przedciążowego (67). W terminie porodu następuje funkcjonalny "spadek progesteronu", obserwowany w ludzkim myometrium, wynikający ze zmniejszenia ekspresji receptorów progesteronowych (68).

Stężenie DHEA podobnie jak i estradiolu wzrastają wraz z trwaniem ciąży (69). Niższe stężenia DHEA i estradiolu występują u pacjentek po terminie porodu, które nie odpowiadają na indukcję porodu (70, 71).

1.4. Znaczenie Całkowitego Statusu Antyoksydacyjnego (TAS)

Wolne rodniki definiujemy jako atom lub cząsteczka z jednym lub więcej niesparowanymi elektronami, które są zdolne do samodzielnego funkcjonowania. Wolne rodniki są stale produkowane przez komórki ustroju, a w przypadku połączenia z tlenem tworzą wolne rodniki tlenowe, które biologicznie są najważniejszymi wolnymi rodnikami (72).

Akumulacja reaktywnych form tlenu (*reactive oxygen species* - ROS) i wolnych rodników w komórce, może wpływać na wiele ważnych składników komórkowych takich jak lipidy, proteiny, DNA, węglowodany i enzymy, mogąc prowadzić do zniszczenia komórki. Antyoksydanty opóźniają lub zapobiegają tworzeniu się ROS. Prawidłowo, zdrowa komórka broni się przed ROS poprzez produkcję antyoksydantów. Organizm doświadcza stresu oksydacyjnego w momencie, kiedy akumuluje więcej ROS niż jest w stanie wyeliminować. W zdrowym organizmie ROS i antyoksydanty pozostają w równowadze (11, 73, 74).

Ciąża *per se* jest stanem zwiększonego stresu oksydacyjnego, zarówno ze względu na zwiększoną aktywność metaboliczną mitochondriów łożyskowych, które generują ROS jak i z powodu wytwarzania nadtlenu z oksydazy NADPH (Dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy) (75). Zwiększony stres oksydacyjny w 3 trymestrze ciąży występuje najprawdopodobniej z powodu szybkiego rozwoju i rozrostu łożyska. Intensywna aktywność komórek w łożysku jest głównym źródłem stresu oksydacyjnego oraz ROS (76), ale również kompensuje go produkując antyoksydanty (77, 78).

Całkowity Status Antyoksydacyjny (TAS), to parametr oznaczony z surowicy krwi, wyrażony głównie stężeniem grup tiolowych oraz kwasu moczowego łącznie (79). Wartość Całkowitego Statusu Antyoksydacyjnego odzwierciedla wysokość stresu oksydacyjnego. W przypadku porodu przedwczesnego lub samoistnego o czasie, wartości TAS są podwyższone. W ciąży po terminie natomiast nie obserwujemy tego wzrostu, ponieważ mechanizmy przyczyniające się do wystąpienia porodu nie występują a sam poród jest opóźniony (11).

Złożoność procesów hormonalnych zachodzących w organizmie kobiety pod koniec ciąży pokazuje jak duże zmiany muszą się dokonać, żeby umożliwić wystąpienie porodu samoistnego. Stąd też z punktu widzenia praktyki klinicznej ważnym jest aby ustalić, czy któryś z wyżej omówionych parametrów ma wartość prognostyczną dla określenia skuteczności indukcji czy też preindukcji porodu, przed jej rozpoczęciem u konkretnej pacjentki. Powyższy problem stanowił inspirację do podjęcia badań, których wyniki zawarte są w przedstawionej rozprawie.

2. CEL PRACY

Celem pracy było określenie wartości predykcyjnej zmian w stężeniach wybranych hormonów w surowicy krwi ciężarnych i w łożysku oraz parametrów stresu oksydacyjnego w ustroju w powodzeniu indukcji porodu u pacjentek po 41 tygodniu ciąży.

Cel pracy realizowany był przez:

1. Ocenę stężeń wybranych hormonów (progesteron, estradiol, CRH) oraz Całkowitego Statusu Antyoksydacyjnego w surowicy krwi ciężarnych przed porodem.
2. Ocenę stężenia CRH oraz receptorów CRH R1, CRH R2, ER alfa i ER beta w łożysku po porodzie.
3. Określenie zależności między stężeniami kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a skutecznością preindukcji oraz czasem który upłynął do uzyskania skutecznej indukcji porodu.
4. Ocenę zależności między stężeniami kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a koniecznością zastosowania oksytocyny celem indukcji porodu, bądź podczas porodu oraz sposobem ukończenia ciąży i czasem trwania poszczególnych okresów porodu.

3. MATERIAŁ

Badaniami objęto łącznie 163 kobiety hospitalizowane w Klinice Perinatologii i Ginekologii Katedry Perinatologii i Ginekologii oraz na Oddziale Porodowym Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego imienia Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, pomiędzy wrześniem 2015 a marcem 2018 roku. Z pacjentkami, które włączono do badania zebrano wywiad, przeprowadzono badanie ginekologiczne, badanie ultrasonograficzne oraz pobrano próbki krwi i fragmenty łożysk po porodzie. Próbki krwi od pacjentek z grupy badanej pobierano w momencie zastosowania pierwszej interwencji (indukcji lub preindukcji), z grupy kontrolnej natomiast zaraz po przyjęciu na oddział porodowy z rozpoczynającą się czynnością skurczową macicy. Fragmenty łożysk pobierane były do 24h po porodzie, z ½ odległości między przyczepem pępowiny a brzegiem łożyska.

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu wyraziła zgodę na przeprowadzenie badań (uchwała numer 773/15), oraz po zmianie tytułu pracy (uchwała numer 1294/18). Wszystkie pacjentki otrzymały wyczerpującą informację na temat badania i podpisały świadomą zgodę na ich przeprowadzenie.

Badania zostały sfinansowane z badań statutowych Kliniki Perinatologii i Ginekologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

W ramach realizacji projektu podjęto współpracę z Zakładem Patologii Nowotworów, Wielkopolskiego Centrum Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu im. Karola Marcinkowskiego przy ul. Garbary 15, 61-866, Poznań. Współpraca polegała na umożliwieniu oraz pomocy w wykonaniu jakościowej oceny kortykoliberyny oraz receptorów dla CRH i estradiolu w dostarczonych próbkach łożysk.

3.1. GRUPY

3.1.1. Grupa badana

Grupa badana została utworzona w oparciu o dobór celowy pacjentek. Do grupy zakwalifikowano pacjentki u których nie doszło do samoistnego rozpoczęcia porodu po ukończonym 41 tygodniu ciąży (n=114). U wszystkich pacjentek przeprowadzono

weryfikację wieku ciążowego w oparciu o ultrasonograficzną ocenę CRL w I trymestrze oraz zakwalifikowano do preindukcji bądź indukcji porodu. Wszystkie ciążę były ciążami pojedynczymi.

W grupie badanej zastosowano następujące kryteria wykluczające włączenie do grupy: choroby układu sercowo-naczyniowego, choroby metaboliczne, choroby nowotworowe, choroby zapalne oraz choroby autoimmunologiczne.

3.1.2. Grupa kontrolna

Grupa kontrolna została utworzona w oparciu o dobór celowy pacjentek, u których poród rozpoczął się samoistnie. Grupa kontrolna została podzielona na 2 podgrupy kontrolne:

- pacjentki, u których poród rozpoczął się samoistnie przed 41 tygodniem ciąży (n=24);
- pacjentki, u których poród rozpoczął się samoistnie po ukończonym 41 tygodniu ciąży (n=23).

U wszystkich pacjentek przeprowadzono weryfikację wieku ciążowego z CRL z USG z I trymestru. Wszystkie ciążę były ciążami pojedynczymi. W grupach kontrolnych zastosowano następujące kryteria wykluczające włączenie do grupy: poród przedwczesny, choroby układu sercowo-naczyniowego, choroby metaboliczne, choroby nowotworowe, choroby zapalne oraz choroby autoimmunologiczne.

4. METODY

4.1. Ocena parametrów klinicznych

Z pacjentkami z grupy badanej oraz kontrolnej zebrano wywiad dotyczący wieku, masy ciała i wzrostu pacjentki, jej historii położniczej oraz rodzinnej w kierunku czasu trwania ciąży. U wszystkich ciężarnych wykonano badanie ginekologiczne oceniając przygotowanie szyjki macicy do porodu w skali Bishopa oraz badanie ultrasonograficzne, oceniając położenie, ustawienie, szacowaną masę oraz USG doppler tętnicy środkowej mózgu

oraz tętnicy pępowinowej. Po porodzie oceniono masę ciała noworodka, parametry równowagi kwasowo-zasadowej oraz dobrostan noworodka w skali Apgar.

4.2. Oznaczenie wybranych parametrów z surowicy krwi

10 ml krwi żyłnej pobierano z żyły okolicy zgięcia łokciowego do probówek zawierających etylenodwuaminocteroocian (EDTA). Krew wirowano i osocze przenoszono do probówek typu Eppendorfa i zamrażano w temperaturze -80°C , celem jednoczasowego oznaczenia jak największej liczby próbek z grupy badanej oraz kontrolnych. Następnie oznaczone zostały stężenia progesteronu, estradiolu, kortykoliberyny oraz Całkowity Status Antyoksydacyjny.

4.2.1. Oznaczenie wybranych hormonów w surowicy krwi ciężarnej (progesteron, estradiol)

Badanie przeprowadzone według standardowego protokołu oznaczania stężeń progesteronu oraz estradiolu z surowicy krwi, za pomocą automatycznego analizatora w laboratorium Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

4.2.2. Oznaczenie CRH

Oznaczenie stężenia kortykoliberyny w surowicy krwi było wykonywane z wykorzystaniem komercyjnego zestawu ELISA Kit for Corticoliberin, firmy Biokom.

Procedura oznaczania została przeprowadzona zgodnie z instrukcją dostarczoną przez producenta, w Centralnym Laboratorium Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

4.2.3. Oznaczenie TAS

Do wykonania oznaczenia Całkowitego Statusu Antyoksydacyjnego został wykorzystany zestaw Randox *Total Antioxidant Status* na aparacie COBAS firmy Roche. Zestaw zawiera odczynnik w skład którego wchodzi ABTS (2,2' – Azyno - di - [sulfonian etylobenzotiazoliny]), inkubowany z peroksydazą (metmyoglobina) oraz H_2O_2 , celem wyprodukowania wolnego

rodnika ABTS⁺. Oznaczenie próbek badanych wykonywane jest metodą kolorymetryczną. Powyższy rodnik, ma stabilną niebiesko-zieloną barwę, którą można zmierzyć wiązką o długości fali 600nm. Antyoksydanty w dodanej próbce osocza powodują osłabienie wiązki w stopniu proporcjonalnym do ich stężenia.

Wykorzystując powyższą metodologię, możliwe jest uzyskanie liniowości wyników stężeń TAS do wartości 2,5 mmol/L.

Procedura oznaczania została przeprowadzona zgodnie z instrukcją dostarczoną przez producenta, w Centralnym Laboratorium Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

4.3. Oznaczenie jakościowe stężenia kortykoliberyny oraz receptorów dla estradiolu, progesteronu, kortykoliberyny w łożysku

Po porodzie z płyty łożyska, ½ odległości między przyczepem pępowiny a brzegiem łożyska, pobierano dwa fragmenty o wymiarach 2x2 cm. Uzyskany materiał utrwalano w formalinie, a następnie przekazywano do Zakładu Patologii Nowotworów w Wielkopolskim Centrum Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, gdzie po przygotowaniu blozków parafinowych wykonano wybarwienie przeciwciałami monoklonalnymi w kierunku obecności kortykoliberyny, receptora dla kortykoliberyny R1, R2 oraz receptora estrogenowego alfa i beta.

Celem wybarwienia preparatów wykorzystano następujące przeciwciała monoklonalne:

- CRH - Anti-CRH/CRF (C_Terminus) IHC-plusTM, firmy LSBio;
- CRH R1 - Anti-Corticotropin- Releasing Factor Receptor 1, firmy Millipore;
- CRH R2 - Anti-Corticotropin Releasing Factor Receptor 2, firmy ABCAM;
- ER alpha - FLEX Monoclonal Rabbit X-H ER alpha Clone EP1, firmy DAKO;
- ER beta - Monoclonal Mo a Hu Estrogen Receptor Beta, firmy DAKO.

Następnie przygotowano preparaty do oceny mikroskopowej. Pod mikroskopem dokonano oceny jakościowej wybarwienia preparatów przez dwóch niezależnych oceniających. Każdy preparat został sklasyfikowany do jednej z 4 grup: 0, 1, 2 lub 3, w zależności

od intensywności wybarwienia, gdzie 0 oznacza jego brak, a 3 najbardziej intensywne wybarwienie.

4.4. Określanie skuteczności preindukcji oraz indukcji

Za skuteczną preindukcję oraz indukcję porodu uznawano taką, w efekcie której uzyskano dojrzałą szyjkę macicy (powyżej 6 punktów w skali Bishopa) oraz regularną czynność skurczową mięśnia macicy z lub bez podania oksytocyny.

4.5. Analiza statystyczna

Do analizy statystycznej użyto programu Statistica w wersji 13 firmy StatSoft. Porównania zmiennych ilościowych dokonano za pomocą testu parametrycznego t-Studenta lub nieparametrycznego Manna-Whitneya, w przypadku braku zgodności z rozkładem normalnym. Różnice dotyczące cech opisanych na skali nominalnej zbadano stosując testy Chi-kwadrat oraz test Fishera-Freemana-Haltona (w zależności od liczności w tabeli wielodzielczej). Dla skali porządkowych użyto współczynnika korelacji rangowej Spearmana oraz testu Kruskala-Wellisa. Za granicę istotności statystycznej przyjęto wartość 0,05.

5. WYNIKI

5.1. Charakterystyka analizowanych grup

Charakterystykę analizowanych grup podsumowano w tabeli 3 i 4.

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między analizowanymi grupami pod względem wieku pacjentek, przedciążowego BMI, dodatniego wywiadu w kierunku ciąży po terminie u pacjentki oraz jej matki czy siostry. Wykazano natomiast statystycznie wyższy odsetek pierwiastek w grupie pacjentek będących w ciąży po terminie. Ponadto noworodki z tej grupy cechowała większa masa urodzeniowa.

Tabela 3. Charakterystyka grup badanych

Zmienna	Grupa badana		Grupa kontrolna < 41t.c.		Grupa kontrolna ≥ 41t.c.	
	Średnia	Odch.std	Średnia	Odch.std	Średnia	Odch.std
wiek	29,0	4,2	30,7	4,5	30,6	4,9
BMI	23,1	4,3	23,8	5,5	23,3	3,8
Liczba dni w stosunku do 41 tygodnia ciąży	+1,9	2,1	-12,3	7,3	+0,7	2,0
masa ciała noworodka	3 686,7	398,4	3 506,8	397,9	3 661,7	417,5

Tabela 4. Charakterystyka grup badanych c.d.

Zmienna	Grupa badana		Grupa kontrolna		Grupa kontrolna 41	
	n	%	n	%	n	%
pierwiastki	114	83,2	25	44	24	60,9
ciąża po terminie w wywiadzie pacjentki	18	44,4	14	14,3	9	22,2
ciąża po terminie w wywiadzie rodzinnym	58	50	10	40	10	60
ilość noworodków płci męskiej	114	47,8	25	72	24	75
pacjentki z dojrzałą szyjką macicy w momencie włączenia do badania.	114	12,4	25	64	24	54,2

5.2. Kortykoliberyna

5.2.1. Stężenie kortykoliberyny w surowicy krwi ciężarnej

Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w średnim stężeniu kortykoliberyny w surowicy krwi ciężarnych między poszczególnymi grupami badanymi ($p>0.8$). Ponadto nie wykazano różnic pomiędzy pacjentkami wymagającymi indukcji, a tymi u których poród rozpoczął się samoistnie (2 grupy kontrolne łącznie) ($p>0,9$) (Tabela 5).

Tabela 5. Wyniki stężeń badanych hormonów w ustroju ciężarnych z grup badanych.

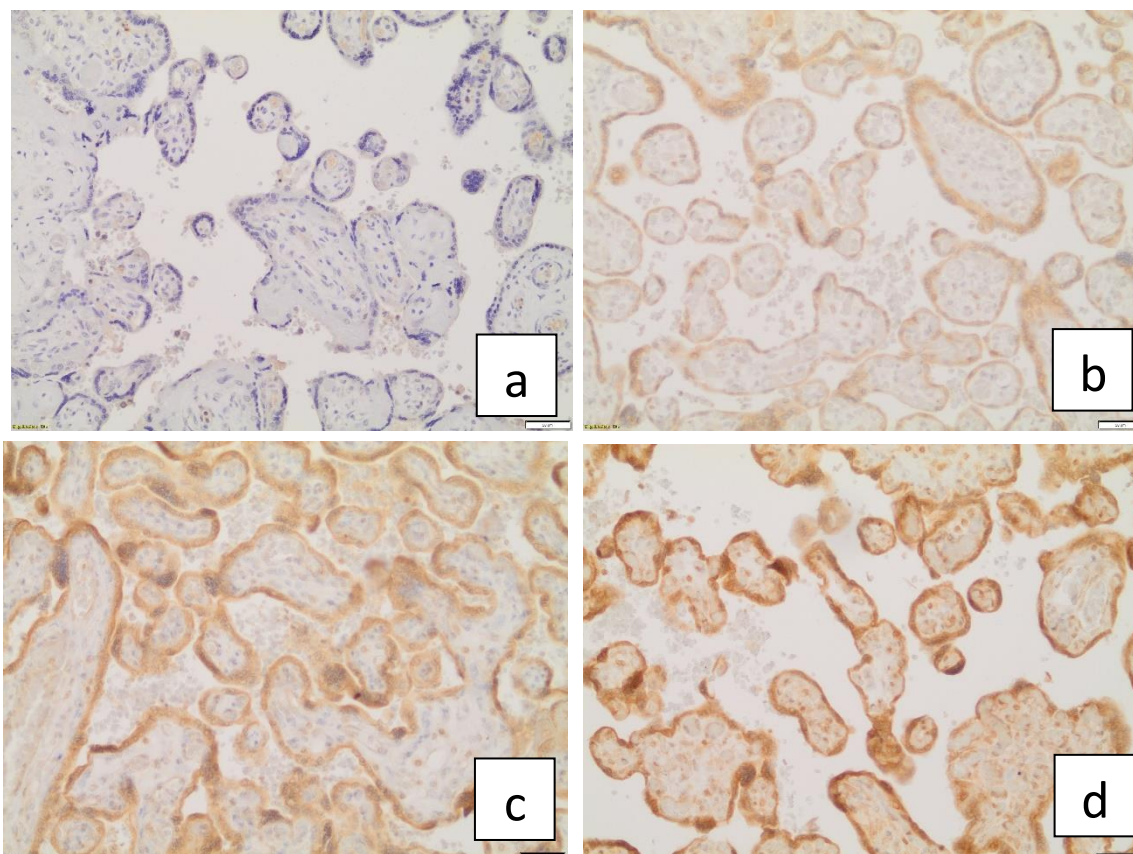
Zmienna	Grupa badana		Grupa kontrolna <41 t.c.		Grupa kontrolna ≥41 t.c.	
	Średnia	Odch.std	Średnia	Odch.std	Średnia	Odch.std
CRH [pg/ml]	1236,7	132,5	1209,5	148,4	1254,0	120,0
Estradiol [pg/ml]	36359,0	13010,5	27139,7	9311,2	33772,5	14271,3
Progesteron [ng/ml]	375,0	163,9	386,8	202,7	358,8	118,4
TAS [mmol/l]	1,5	0,3	1,3	0,3	1,4	0,3

5.2.2. Jakościowa ocena ilości kortykoliberyny w łożysku po porodzie

Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w jakościowej ocenie ilości kortykoliberyny w łożysku ciężarnych między poszczególnymi grupami badanymi ($p>0.5$). Ponadto nie wykazano różnic pomiędzy pacjentkami wymagającymi indukcji, a tymi u których poród rozpoczął się samoistnie (2 grupy kontrolne łącznie) ($p>0,3$) (Tabela 6).

Tabela 6. Wyniki jakościowej oceny ilości kortykoliberyny w poszczególnych grupach.

Ocena jakościowa CRH	Grupa badana [%]	Grupa kontrolna <41t.c. [%]	Grupa kontrolna ≥ 41 t.c. [%]
0	2,7	0,0	0,0
1	50,7	33,3	42,9
2	28,8	50,0	33,3
3	17,8	16,7	23,8



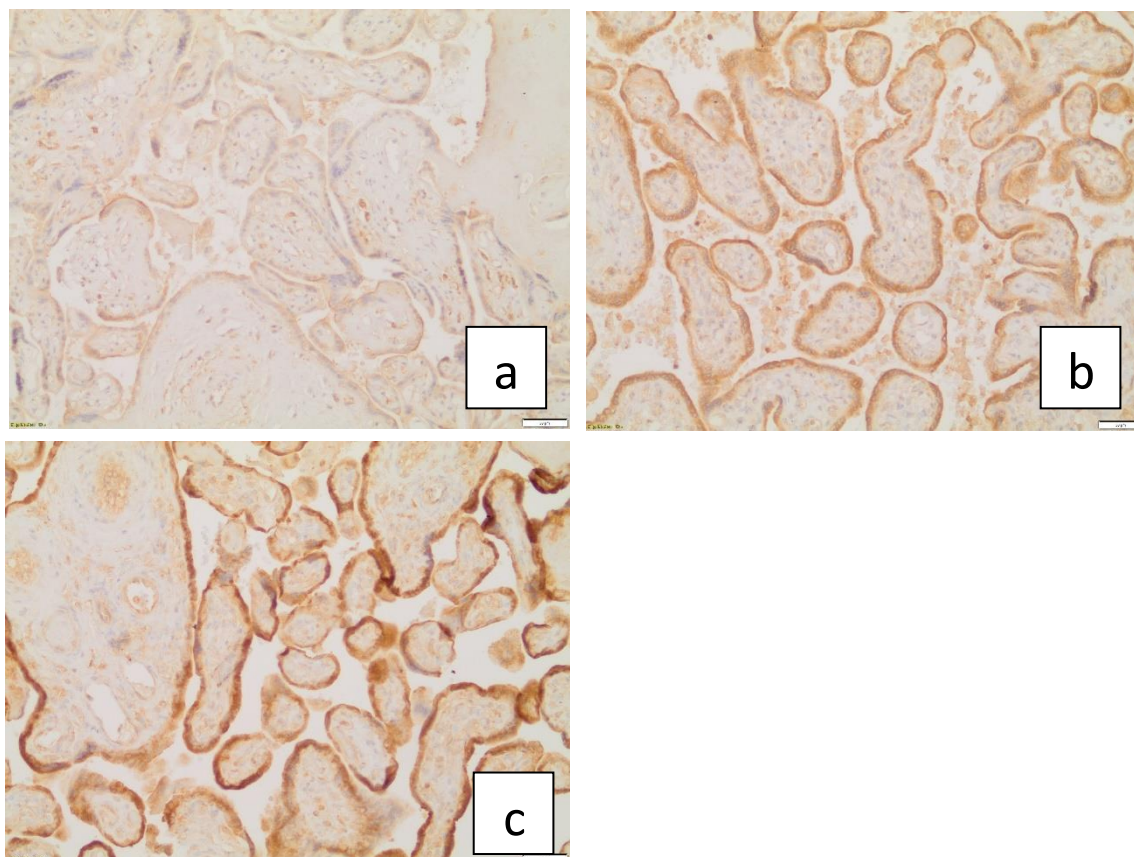
Rycina 3. Ocena wybarwienia preparatów łożyska przeciwciałami monoklonalnymi w kierunku obecności kortykoliberyny. Preparaty ocenione jako stopień wybarwienia: 0 (a), 1(b), 2(c), 3(d).

5.2.3. Jakościowa ocena ilości receptorów dla kortykoliberyny w łożysku po porodzie

Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w jakościowej ocenie receptora R1 dla kortykoliberyny w łożysku ciężarnych między poszczególnymi grupami badanymi ($p>0.3$). Ponadto nie wykazano różnic pomiędzy pacjentkami wymagającymi indukcji, a tymi u których poród rozpoczął się samoistnie (2 grupy kontrolne łącznie) ($p>0,5$) (Tabela 7).

Tabela 7. Wyniki jakościowej oceny ilości receptora 1 dla kortykoliberyny w badanych grupach.

Ocena jakościowa CRH R1	Gr. badana [%]	Gr. kontrolna [%]	Gr. kontrolna 41 [%]
0	0,0	0,0	0,0
1	4,4	15,0	0,0
2	23,9	15,0	16,7
3	71,7	70,0	83,3

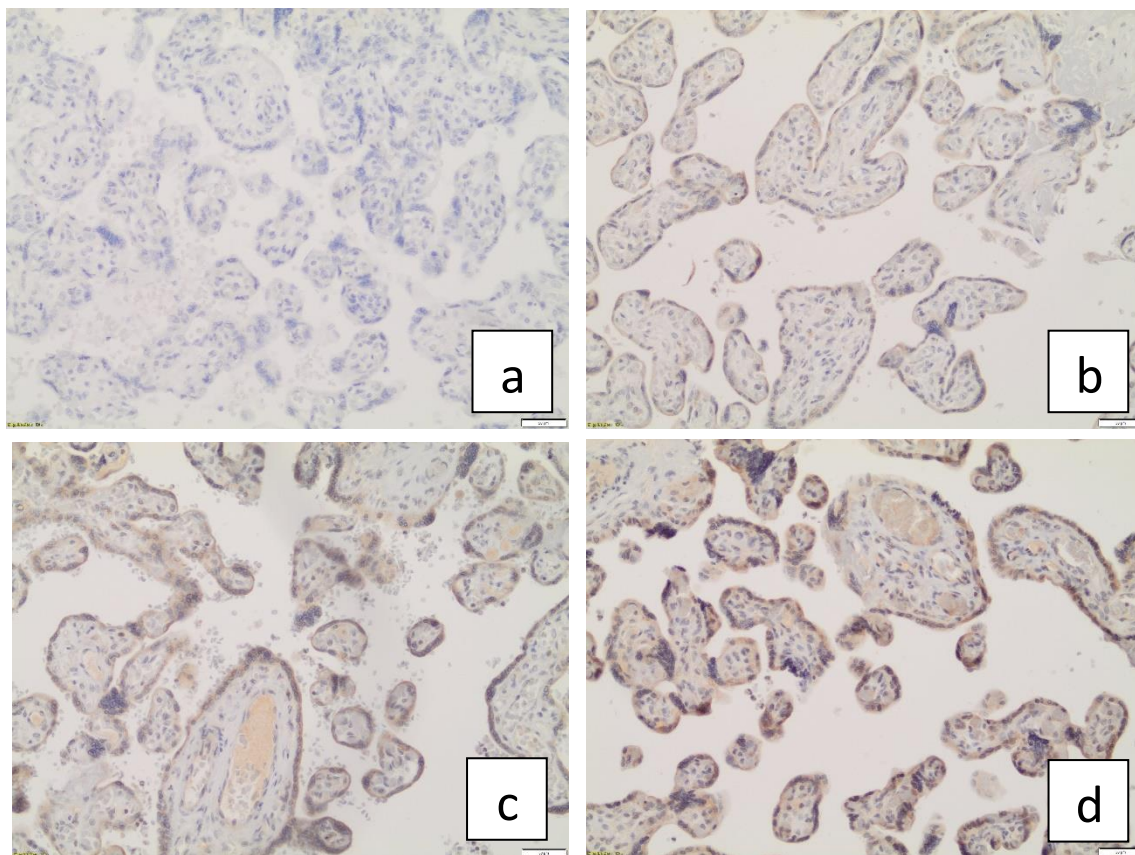


Rycina 4. Ocena wybarwienia preparatów łożyska przeciwciałami monoklonalnymi w kierunku obecności receptora 1 dla kortykoliberyny. Preparaty ocenione jako stopień wybarwienia: 1(a), 2(b), 3(c).

Analizując jakościową ocenę receptora 2. dla kortykoliberyny, najintensywniejsze wybarwienie preparatu uzyskano w grupie pacjentek, u których poród rozpoczął się samoistnie przed 41 tygodniem, natomiast mniej intensywne w grupie pacjentek, u których poród był indukowany po 41 tygodniu ciąży ($p < 0.002$). Nie wykazano natomiast różnic pomiędzy pacjentkami wymagającymi indukcji, a tymi u których poród rozpoczął się samoistnie (2 grupy kontrolne łącznie) ($p > 0,1$) (Tabela 8).

Tabela 8. Wyniki jakościowej oceny ilości receptora 2 dla kortykoliberyny w badanych grupach.

Ocena jakościowa CRH R2	Gr. badana [%]	Gr. kontrolna <41 t.c.[%]	Gr. kontrolna ≥41 t.c. [%]
0	1,3	0,0	0,0
1	42,7	29,2	47,6
2	48,0	29,2	52,4
3	8,0	41,6	0,0

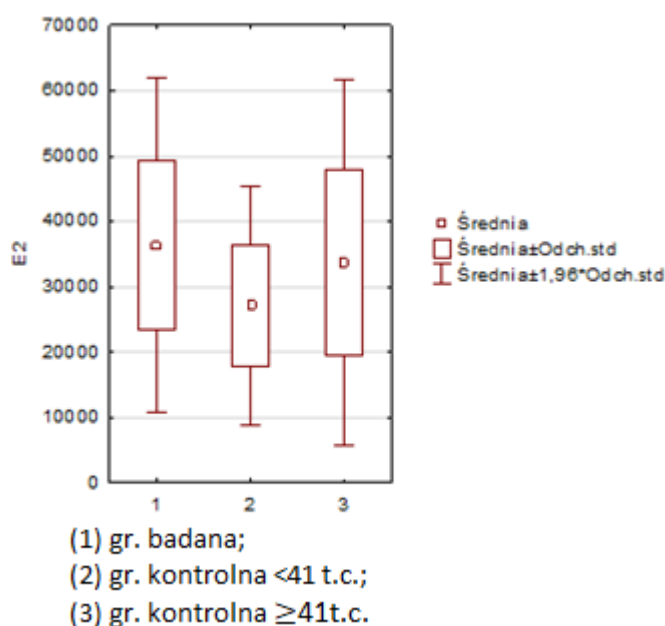


Rycina 5. Ocena wybarwienia preparatów łożyska przeciwciałami monoklonalnymi w kierunku obecności receptora 2 dla kortykoliberyny. Preparaty ocenione jako stopień wybarwienia: 0(a), 1(b), 2(c), 3(d).

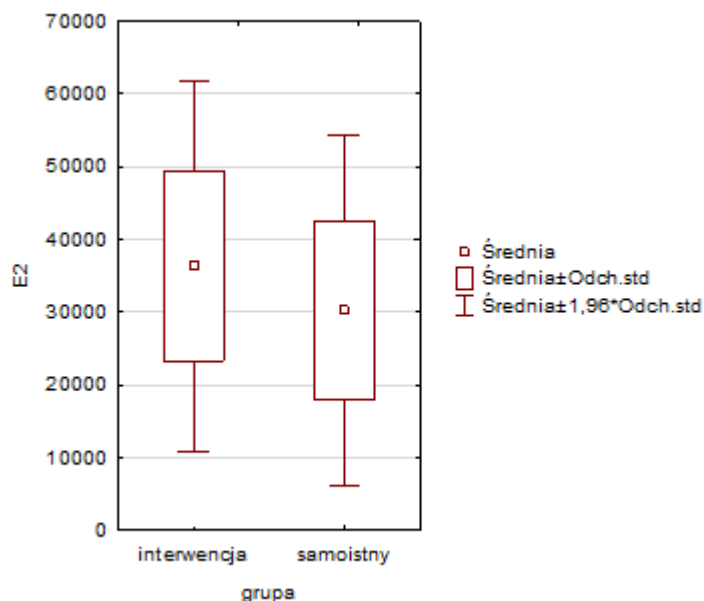
5.3. Estradiol

5.3.1. Stężenie estradiolu w surowicy krwi ciężarnej

Średnie stężenia estradiolu w surowicy krwi ciężarnych w grupie badanej wynosiło 36359,0 pg/ml, grupie kontrolnej rodzącej przed 41 tygodniem ciąży 27139,7pg/ml, a w grupie kontrolnej u których poród rozpoczął się samoistnie po 41 tygodniu wynosiło 33772,5pg/ml (Tabela 3). Najwyższe średnie stężenie estradiolu wykazano w grupie badanej (poród indukowany po 41 tygodniu), natomiast najniższe w grupie pacjentek, u których poród rozpoczął się samoistnie przed 41 tygodniem ($p<0.005$). Wykazano również istotną statystycznie różnicę w wartości estradiolu pomiędzy pacjentkami, u których poród zaczął się samoistnie, niezależnie od tygodnia ciąży, a pacjentkami wymagającymi preindukcji, bądź indukcji ($p<0.009$) (Rycina 6, 7).



Rycina 6. Rozkład wartości stężenia estradiolu w [pg/ml] w ustroju ciężarnej w poszczególnych grupach.



Rycina 7. Rozkład wartości stężenia estradiolu w [pg/ml] w ustroju ciężarnej u pacjentek wymagających zastosowania preindukcji lub indukcji porodu w stosunku do grupy w której poród rozpoczął się samoistnie.

5.3.2. Jakościowa ocena ilości receptorów estrogenowych alfa w łożysku po porodzie

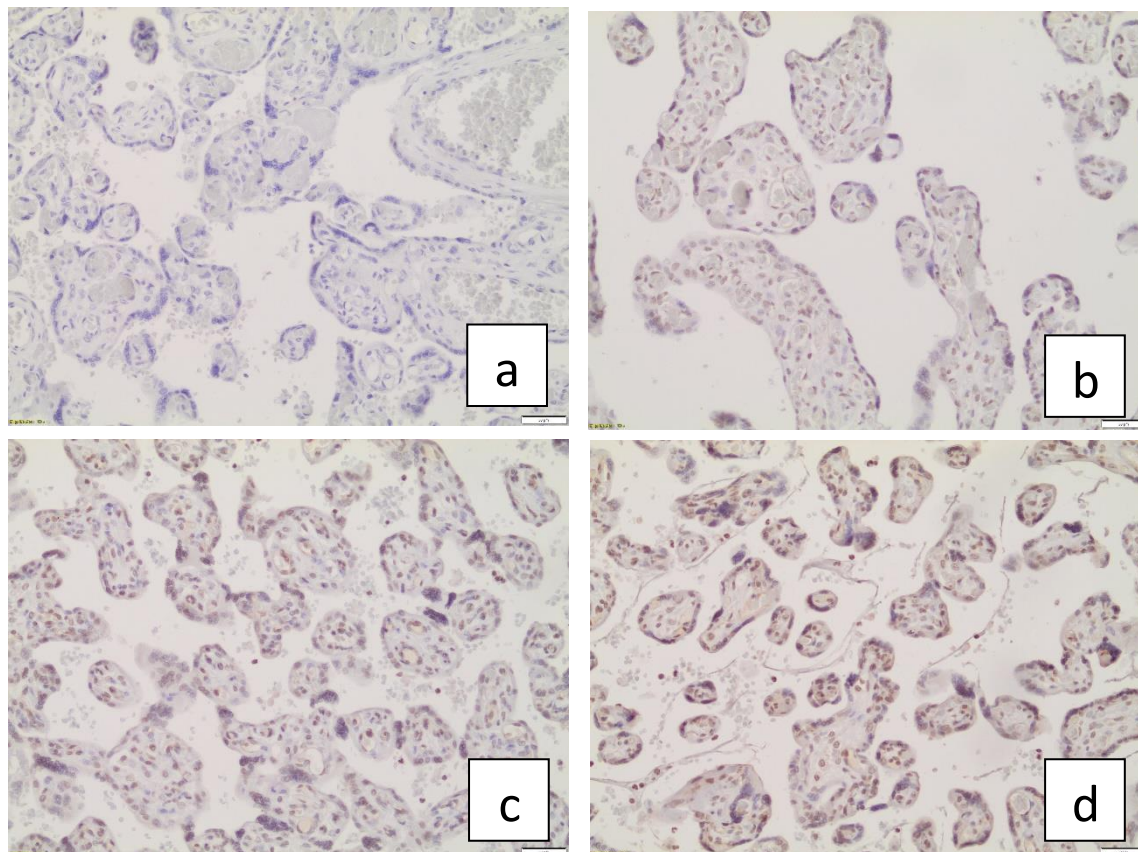
W przeprowadzonym badaniu wykonano próbę oznaczenia receptora estrogenowego alfa w pobranym fragmencie łożyska. We wszystkich grupach nie uzyskano wybarwienia w żadnym z preparatów.

5.3.3. Jakościowa ocena ilości receptorów estrogenowych beta w łożysku po porodzie

Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w jakościowej ocenie receptora estrogenowego beta w łożysku ciężarnych między poszczególnymi grupami pacjentek ($p > 0.9$). Ponadto nie wykazano różnic w tym zakresie pomiędzy pacjentkami wymagającymi indukcji, a tymi u których poród rozpoczął się samoistnie (2 grupy kontrolne łącznie) ($p > 0,8$) (Tabela 9).

Tabela 9. Wyniki jakościowej oceny ilości receptora estrogenowego beta w badanych grupach.

Ocena jakościowa ER beta	Gr. badana [%]	Gr. kontrolna <41 t.c.[%]	Gr. kontrolna ≥41 t.c.[%]
0	6,8	4,2	0,0
1	68,9	70,8	81,0
2	21,6	20,8	19,1
3	2,7	4,2	0,0



Rycina 8. Ocena wybarwienia preparatów łożyska przeciwciałami monoklonalnymi w kierunku obecności receptora estrogenowego beta. Preparaty ocenione jako stopień wybarwienia: 0(a), 1(b), 2(c), 3(d).

5.4. Progesteron

5.4.1. Stężenie progesteronu w surowicy krwi ciężarnej

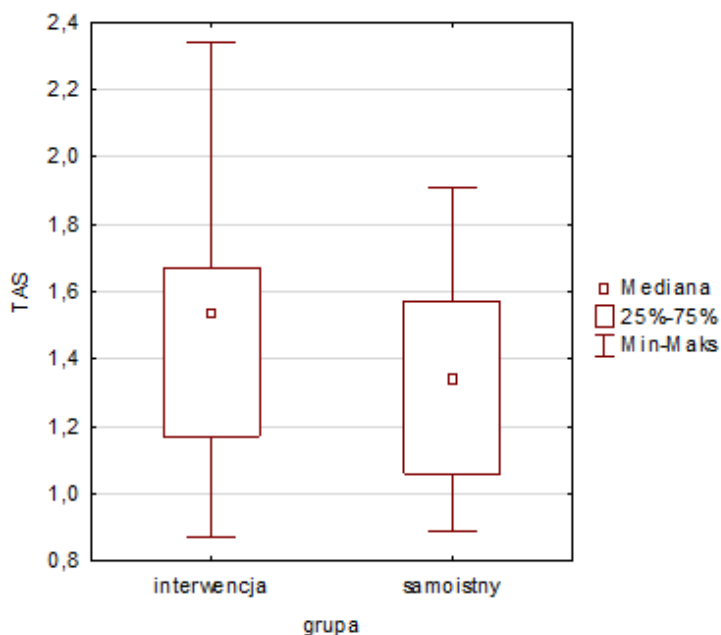
Średnie stężenia progesteronu w surowicy krwi ciężarnych w grupie badanej wynosiło 375,0 ng/ml, grupie kontrolnej rodzącej przed 41 tygodniem ciąży 386,8 ng/ml,

a w grupie kontrolnej u których poród rozpoczął się samoistnie po 41 tygodniu wynosiło 358,8 ng/ml (Tabela 3). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w średnim stężeniu progesteronu w surowicy krwi ciężarnych między poszczególnymi grupami pacjentek ($p>0.9$). Ponadto, nie wykazano różnic pomiędzy pacjentkami wymagającymi indukcji, a tymi u których poród rozpoczął się samoistnie (2 grupy kontrolne łącznie) ($p>0.9$) (Tabela 3).

5.5. Całkowity Status Antyoksydacyjny

5.5.1. Stężenie TAS w surowicy krwi ciężarnej

Średnie stężenia TAS w surowicy krwi ciężarnych w grupie badanej wynosiło 1,5 mmol/l, grupie kontrolnej rodzącej przed 41 tygodniem ciąży 1,3mmol/l, a w grupie kontrolnej u których poród rozpoczął się samoistnie po 41 tygodniu wynosiło 1,4mmol/l (Tabela 3). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w średnim stężeniu TAS w surowicy krwi ciężarnych między poszczególnymi grupami pacjentek ($p=0.09$) (tabela 3). Wykazano natomiast różnicę istotną statystycznie pomiędzy pacjentkami wymagającymi indukcji, a tymi u których poród rozpoczął się samoistnie (2 grupy kontrolne łącznie) ($p<0,03$) (Rycina 9).



Rycina 9. Wartości stężenia TAS w [mmol/l] w ustroju ciężarnej u pacjentek wymagających zastosowania preindukcji lub indukcji (interwencja), w stosunku do grupy w której poród rozpoczął się samoistnie (samoistny).

5.6. Stężenia kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a skuteczność preindukcji oraz indukcji

Nie stwierdzono istotnych różnic między stężeniem kortykoliberyny ($p>0,5$), estradiolu ($p>0,8$), progesteronu ($p>0,9$), Całkowitego Statusu Antyoksydacyjnego ($>0,8$), a skutecznością preindukcji oraz indukcji porodu (Tabela 10).

Tabela 10. Wyniki stężeń hormonalnych w ustroju ciężarnych z grupy badanej, która wymagała preindukcji lub indukcji po zakończonym 41. tygodniu ciąży.

Zmienna	Efekt indukcji			
	Skuteczna		Nieskuteczna	
	Średnia	Odch.std	Średnia	Odch.std
CRH [pg/ml]	1 323,1	144,0	1 266,0	110,1
Estradiol [pg/ml]	35 371,5	13 381,7	35 999,0	12 288,0
Progesteron [ng/ml]	429,0	156,7	352,8	145,9
TAS [mmol/l]	1,6	0,3	1,4	0,3

5.7. Stężenia kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a ilość wykonanych preindukcji oraz czas który upłynął do uzyskania skutecznej indukcji porodu

Nie stwierdzono korelacji między stężeniem kortykoliberyny ($p>0,6$), estradiolu ($p>0,1$), progesteronu ($p>0,1$), Całkowitego Statusu Antyoksydacyjnego ($>0,2$), a ilością preindukcji niezbędnych do uzyskania jej skuteczności.

Ponadto nie wykazano zależności między stężeniami kortykoliberyny ($p>0,3$), estradiolu ($p>0,6$), progesteronu ($p>0,4$), Całkowitego Statusu Antyoksydacyjnego ($>0,2$), a czasem który upłynął od rozpoczęcia preindukcji lub indukcji do porodu.

5.8. Stężenia kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a konieczność zastosowania oksytocyny celem indukcji porodu, bądź stymulacji czynności skurczowej podczas porodu

Podczas analizy pacjentki z grupy badanej zostały podzielone na 3 podgrupy:

- pacjentki nie wymagające indukcji porodu za pomocą oksytocyny (n=69);
- pacjentki u których wykonano jednokrotną indukcję porodu za pomocą oksytocyny (n=28);
- pacjentki u których wykonano dwukrotną indukcję porodu za pomocą oksytocyny (n=8).

Nie wykazano istotnych różnic między stężeniem kortykoliberyny ($p>0,1$), estradiolu ($p>0,05$), progesteronu ($p>0,05$), Całkowitego Statusu Antyoksydacyjnego ($>0,9$), a koniecznością zastosowania oksytocyny celem indukcji porodu. Jednakże wartości estradiolu oraz progesteronu znajdowały się na granicy istotności statystycznej, z najwyższymi wartościami średnimi obu tych parametrów w grupie wymagającej dwukrotnej indukcji oksytocyną (Tabela 11).

Tabela 11. Wyniki stężeń hormonalnych w ustroju ciężarnych z grupy badanej, która wymagała preindukcji lub indukcji po zakończonym 41. tygodniu ciąży, w zależności od konieczności oraz krotności podawania oksytocyny celem indukcji porodu.

Zmienna	nie podano oksytocyny		1 krotne podanie oksy/przy porodzie		2 x indukcja oksytocyną	
	Średnia	Odch.std	Średnia	Odch.std	Średnia	Odch.std
CRH [pg/ml]	1 260,6	99,6	1 175,2	180,6	1 260,8	79,9
Estradiol [pg/ml]	37 809,4	12 391,8	31 819,7	13 793,8	41 779,9	11 963,7
Progesteron [ng/ml]	389,0	168,8	321,2	142,8	436,3	171,3
TAS [mmol/l]	1,5	0,3	1,4	0,3	1,4	0,3

5.9. Stężenia kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a sposób ukończenia ciąży

Biorąc pod uwagę analizę sposobu ukończenia ciąży, pacjentki z grupy badanej zostały podzielone na 4 podgrupy:

- poród siłami natury (n=51);
- cięcie cesarskie (n=35);
- poród operacyjny drogą pochwową przy pomocy operacji kleszczowej (n=1);
- poród operacyjny drogą pochwową przy pomocy wyciągacza próżniowego (n=18).

Ze względu na małą liczebność grupy pacjentek, u których poród zakończył się przy pomocy operacji kleszczowej (n=1), pominięto tę operację w analizach statystycznych.

Nie wykazano korelacji między stężeniem kortykoliberyny ($p>0,8$), estradiolu ($p>0,3$), progesteronu ($p>0,6$), Całkowitego Statusu Antyoksydacyjnego ($>0,5$), a sposobem ukończenia ciąży (tabela 12).

Tabela 12. Wyniki stężeń hormonów w ustroju ciężarnych z grupy badanej, która wymagała preindukcji lub indukcji po zakończonym 41. tygodniu ciąży, w zależności od sposobu ukończenia ciąży.

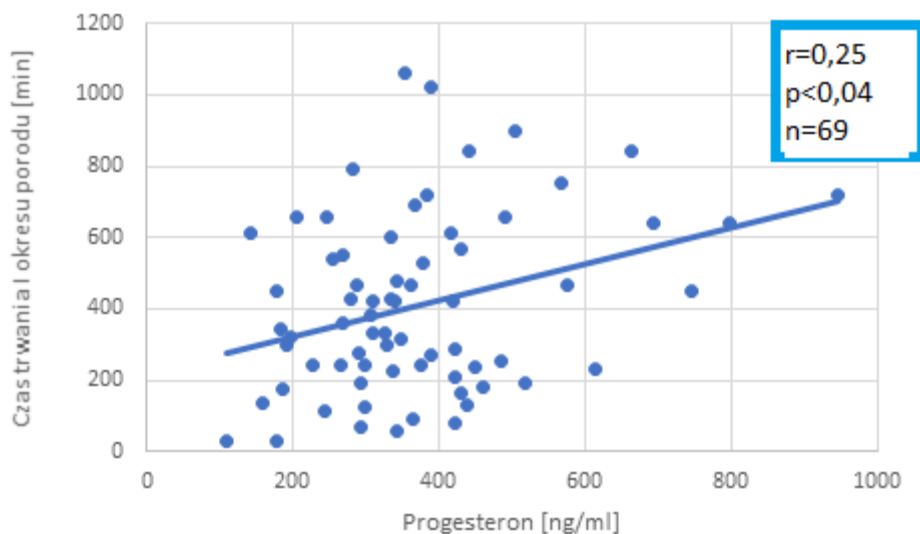
Zmienna	PSN		CC		VE	
	Średnia	Odch.std	Średnia	Odch.std	Średnia	Odch.std
CRH [pg/ml]	1 232,3	158,9	1 247,2	107,4	1 230,6	92,8
Estradiol [pg/ml]	36 334,2	13 546,5	38 333,9	12 180,0	32 526,8	13 246,4
Progesteron [ng/ml]	422,7	165,2	390,4	178,4	449,6	137,5
TAS [mmol/l]	1,7	0,3	1,5	0,3	1,6	0,3

PSN – poród siłami natury, CC- cięcie cesarskie, VE – wyciągacz próżniowy.

5.10. Stężenia kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a czas trwania poszczególnych okresów porodu

5.10.1. I okres porodu

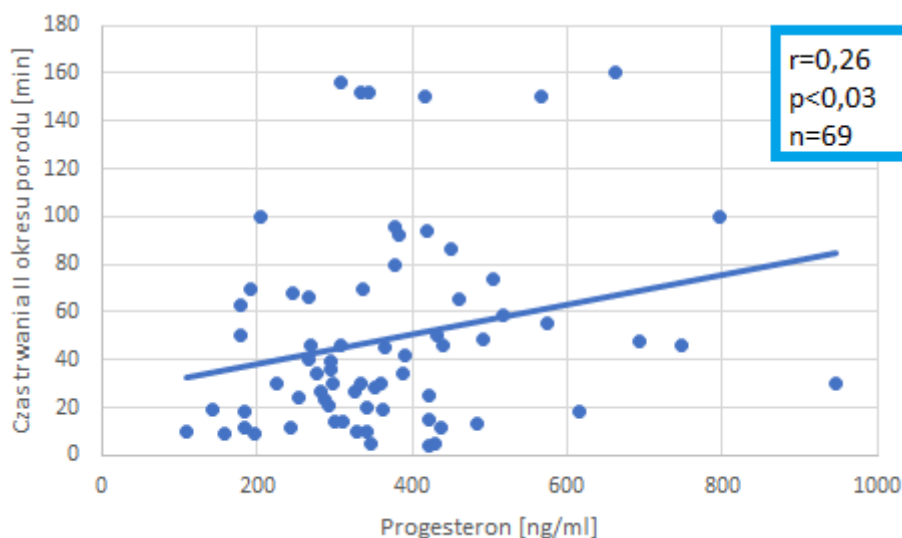
Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy stężeniem kortykoliberyny ($p>0,07$), estradiolu ($p>0,3$), Całkowitego Statusu Antyoksydacyjnego ($>0,1$) w grupie badanej, a czasem trwania I okresu porodu. Wykazano natomiast zależność pomiędzy średnim stężeniem progesteronu, a czasem trwania I okresu porodu ($r=0,25$; $p<0,04$) (Rycina 10). Wyższe wartości stężenia progesteronu sprzyjały dłuższemu czasowi trwania I okresu porodu. Ponadto wynik zależności między stężeniami kortykoliberyny a czasem trwania I okresu porodu znajduje się na granicy istotności statystycznej.



Rycina 10. Zależność między czasem trwania I okresu porodu, a wartościami stężenia progesteronu w ustroju ciężarnych z grupy badanej (wymagających zastosowania preindukcji lub indukcji).

5.10.2. II okres porodu

Nie stwierdzono korelacji między stężeniem kortykoliberyny ($p>0,8$), estradiolu ($p>0,1$), Całkowitego Statusu Antyoksydacyjnego ($>0,6$) w grupie badanej, a czasem trwania II okresu porodu. Wykazano natomiast zależność pomiędzy średnim stężeniem progesteronu, a czasem trwania II okresu porodu ($p<0,03$) (Rycina 11). Wyższe wartości stężenia progesteronu sprzyjały dłuższemu czasowi trwania II okresu porodu.



Rycina 11. Zależność między czasem trwania II okresu porodu, a wartościami stężenia progesteronu w ustroju ciężarnych z grupy badanej (wymagających zastosowania preindukcji lub indukcji).

5.10.3. III okres porodu

Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności między stężeniem kortykoliberyny ($p>0,3$), estradiolu ($p>0,6$), progesteronu ($p>0,1$), Całkowitego Statusu Antyoksydacyjnego ($>0,6$), a czasem trwania III okresu porodu.

6. DYSKUSJA

Choć wiedza odnośnie ciąży, porodu oraz gry hormonalnej zachodzącej przed porodem cały czas się powiększa, nadal złożoność zachodzących procesów nie została do końca poznana. Nadal nie wiadomo dlaczego jedne porody zaczynają się samoistnie, a inne wymagają stymulacji. Ponadto nadal nie wiadomo u których pacjentek indukcje zakończą się sukcesem, a które ciążę będą wymagały operacyjnego ukończenia. Najwięcej uwagi naukowców co do czasu trwania ciąży przykuwa poród przedwczesny i jego patomechanizmy. Jednakże w związku z coraz lepszą diagnostyką i nadzorem nad ciążami powikłanymi chorobami towarzyszącymi, zaczyna się indukować porody w coraz wcześniejszych tygodniach ciąży, celem uniknięcia powikłań płodowych i matczynych. Ale czy w związku z tym nie zwiększa się ilości porodów operacyjnych? W związku z powyższym zasadnym wydaje się odnalezienie czynnika prognostycznego, który określałby szansę konkretnej pacjentki na skuteczną indukcję porodu niezależnie od tygodnia ciąży. Pacjentki zdrowe, po 41 tygodniu ciąży, bez chorób towarzyszących modulujących stężenia hormonalne, stanowią bardzo dobrą grupę badawczą mogącą pozwolić na odnalezienie uchwytanych czynników wpływających na skuteczność indukcji porodu.

Celem tej pracy jest próba odpowiedzenia na pytanie, czy któryś z wybranych parametrów ma wartość prognostyczną, dzięki której zaistnieje możliwość przewidywania z dużym prawdopodobieństwem szansy na skuteczną bądź nieskuteczną indukcję porodu.

6.1. Kortykoliberyna

Rola kortykoliberyny w inicjacji procesów prowadzących do rozpoczęcia czynności skurczowej a następnie porodu jest bezsporna, jednak dokładny mechanizm nie został do końca poznany. Już w 1995 roku McLean i wsp.(37) przeprowadzili badanie na 500 przypadkowych kobietach ciężarnych, mierząc stężenie kortykoliberyny w ich surowicy krwi. W pracy którą opublikowali, dowodzili, że w czasie trwania ciąży dochodzi do wykładniczego wzrostu stężenia

CRH, z pikiem wzrostowym tuż przed porodem (37). W toku badania doszli do wniosku, że w przypadku ciąży po terminie, mechanizm logarytmicznego wzrostu stężenia CRH jest zaburzony i przesunięty w prawa stronę (wolniejszy wzrost), odwrotnie niż w przypadku porodu przedwczesnego.

Wbrew oczekiwaniom, w naszym badaniu nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między grupami badanymi, w stężeniach kortykoliberyny w surowicy krwi ciężarnych przed porodem. Według naszej metodologii próbka krwi od pacjentek rodzących samoistnie była pobierana już w sytuacji rozpoczynającej się regularnej czynności skurczowej, a u pacjentek wymagających indukcji tuż przed jej wdrożeniem, stąd wydawałoby się, że jeszcze przed pikiem wzrostowym kortykoliberyny. Jednakże wyniki pokazują ten sam średni wynik stężenia CRH. Jak widać mechanizm wzrostu CRH najprawdopodobniej rozpoczyna się znacząco wcześniej niż dokładny moment rozpoczęcia czynności skurczowej macicy. Analizując powyższe zasadnym wydaje się wykonywanie seryjnych pomiarów CRH przedporodowo, celem uchwycenia dokładnego momentu piku wzrostowego kortykoliberyny, który pozwoliłby na szacowanie czasu potrzebnego od piku do rozpoczęcia porodu. Implikacje kliniczne takiej modyfikacji badania, mogły by pozwolić scharakteryzować pacjentki, które nie wymagają interwencji, a poród samoistny wystąpi u nich między 41 a 42 tygodniem ciąży.

W piśmiennictwie nie znalazłam doniesień odnośnie analizy stężenia kortykoliberyny w potencjalnym miejscu uchwytu, a mianowicie w łożysku. W naszym materiale podjęliśmy próbę jakościowej oceny ilości CRH w próbce pobranej z łożyska. W tym przypadku podobnie jak podczas analizy CRH w surowicy krwi, nie zaobserwowano różnic.

W piśmiennictwie można znaleźć publikacje analizujące nie tylko kortykoliberynę jako hormon ale i również ekspresję receptorów dla kortykoliberyny w łożysku. W 2012 roku ukazało się badanie w którym Lu Gao i wsp. (47) analizowali reakcje zachodzące w komórkach łożyska pod wpływem antagonistów dla receptorów kortykoliberyny. Opłaszczali oni zarówno receptor R1 oraz R2 antagonistami *in vitro*, sztucznie zmniejszając ich aktywność biologiczną. Efektem powyższego działania, zarówno w przypadku CRH R1 oraz R2, było uzyskanie wzrostu stężenia progesteronu przy równoczesnym spadku estradiolu. Jak powszechnie wiadomo,

jest to mechanizm odwrotny do tego, który zachodzi w przypadku przygotowywania macicy w kierunku porodu i rozpoczęcia akcji porodowej (47).

W materiale własnym, analizowałam jakościową zawartość receptorów R1 oraz R2 dla kortykoliberyny w próbkach łożyska, pobranych po porodzie. Podczas analizy ilości receptora 1, nie wykazano istotnych statystycznie różnic w sile wybarwienia preparatu niezależnie od tygodnia ciąży w którym poród wystąpił samoistnie czy też czy był to poród indukowany. Powyższe wyniki są kompatybilne z informacjami odnośnie kortykoliberyny w surowicy krwi oraz łożysku

Różnicę uzyskałam natomiast w jakościowej ocenie ilości receptora 2 dla kortykoliberyny. Jego ilość w ciąży wymagającej indukcji lub preindukcji była istotnie statystycznie mniejsza w stosunku do obu grup kontrolnych, w tym porodów po 41 tygodniu rozpoczynających się samoistnie. Zaburzenie fizjologicznego mechanizmu *up-regulation* receptorów dla kortykoliberyny, co jest jednoznaczne z mniejszą ilością receptorów dostępnych biologicznie, może zaburzać mechanizm samoistnego rozpoczynania się czynności skurczowej macicy. Niestety należy zwrócić uwagę na ograniczenie oceny ilości receptorów w łożysku jako metody prognostycznej, ze względu na możliwość jego uzyskania dopiero po porodzie, tak więc ma to jedynie wartość poznawczą.

Powyższa analiza ukazująca nieznaczące zmiany dotyczące CRH i jego receptorów w układzie ciężarnej potwierdza fakt, że stężenie CRH nie jest jedynym determinującym elementem wpływającym na wydłużenie czasu trwania ciąży.

6.2. Estradiol

Uważa się, że zaraz po kortykoliberynie, to estradiol wraz z progesteronem odgrywa kluczową rolę w regulacji czasu trwania ciąży oraz rozpoczęcia czynności skurczowej macicy. To właśnie wzrost stężenia estradiolu wraz ze spadkiem progesteronu doprowadza do przejścia komórek miometrium ze stanu relaksacji do stanu kurczliwego. Stąd też odwołując się do danych literaturowych, w fizjologicznym mechanizmie rozpoczynającego się porodu spodziewamy się wzrostu jego stężenia. W przypadku braku porodu mechanizm ten najprawdopodobniej

nie występuje. W 2016 roku ukazała się praca Kim i wsp.(80) w której przeanalizowano 48 pacjentek rodzących od 22 do 40 tygodnia ciąży. W badaniu wykazano stopniowy wzrost stężenia estradiolu w surowicy krwi wraz z czasem trwania ciąży wg krzywej logarytmicznej. Jednakże badanie było prowadzone w ciążach do 40 tygodnia ciąży, a nie 41, stąd ograniczenie odniesienia tego badania do pacjentek w ciąży po terminie (80).

W moim badaniu stężenia estrogenu w surowicy krwi były istotnie statystycznie wyższe w przypadku ciąży po terminie wymagającej indukcji w stosunku do grupy pacjentek u których poród rozpoczął się samoistnie zarówno o czasie jak i po 41 tygodniu. Dodatkowo niższe wartości zaobserwowano u pacjentek rodzących przed 40 tygodniem ciąży w stosunku do porodu samoistnego po 41 tygodniu. Sugerowałoby to większą pobudliwość lub gotowość mięśnia macicy do czynności skurczowej w ciąży po skończonym 41 tygodniu ciąży, co byłoby logicznym rozumowaniem. Natomiast nie wyjaśnia to, dlaczego u pacjentek po terminie wymagających indukcji te wartości są znacząco wyższe. Włoska grupa badawcza pod przewodnictwem Torricelli (71) przeprowadziła analizę czynników wpływających na skuteczność indukcji porodu na grupie 50 pacjentek w ciąży po 41 tygodniu. W swoim badaniu zaobserwowali, że stężenie estradiolu jest istotnie statystycznie wyższe w przypadku pacjentek, które nie odpowiedziały na indukcję porodu, w stosunku do udanych indukcji, a sama ciąża zakończyła się porodem operacyjnym (71). Ponadto objęli oni również analizą stosunek estradiolu do estriolu, który to w sposób istotny był wyższy w przypadku udanych indukcji porodu. Biorąc pod uwagę skuteczność indukcji, w naszym badaniu, nie udało się potwierdzić powyższego wyniku, niezależnie od ilości zastosowanych indukcji czy też ich skuteczności, stężenia estradiolu nie różniły się w sposób istotny statystycznie. Należy zwrócić uwagę na liczebność grup badanych, bowiem w przypadku włoskiej grupy badanie wykonano u 50 pacjentek, podczas gdy w naszym badaniu u 114.

Nie uzyskując oczekiwanych wartości stężenia estradiolu w surowicy krwi matki, przystąpiliśmy do badania ilości receptorów estradiolowych alfa i beta w łożysku. W bazie danych PubMed nie znaleziono badania traktującego o receptorach estrogenowych w ciąży po terminie. Celem odniesienia naszych wyników do danych literaturowych, przeanalizowałam 2 badania odnośnie zmian w stężeniach powyższych receptorów w ciąży ukończonej porodem przedwczesnym w stosunku do ciąży donoszonej. Grupa badawcza z Śląskiego Uniwersytetu Medycznego, pod przewodnictwem

Magdaleny Rother w 2010 roku opublikowała pracę analizującą stężenia receptorów estradiolowych w grupie 20 pacjentek. Dowiedli oni, że w przypadku ciąż ukończonych między 24 a 32 tygodniem ciąży w stosunku do porodów o czasie, stężenie receptorów estrogenowych zarówno alfa jak i beta jest znacząco wyższe, co sugerowałoby większą gotowość macicy do pobudliwości (81). Badanie porównywalne z tym przeprowadzonym przez Rother, wykonali badacze z Korei pod kierunkiem Kim S.C., określając ekspresję receptorów estrogenowych w łożyskach po porodzie przedwczesnym oraz ukończonym o czasie. Analizując 38 łożysk, wykazali istotnie statystycznie wyższe stężenia tych receptorów w ciąży ukończonej o czasie w stosunku do porodu przedwczesnego (80). Wyniki obu powyższych badań są sobie sprzeczne, a tak znaczące różnice mogły wynikać z małej liczebności grup badanych (n=20 vs. n=38)

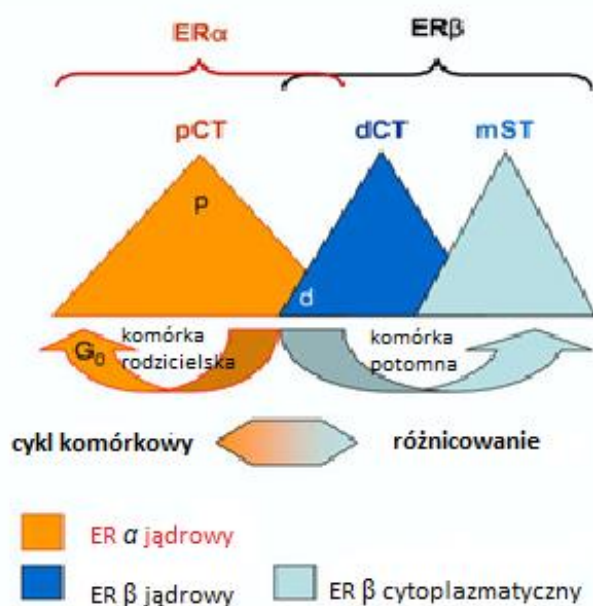
Mimo, iż wyników powyższych badań nie można bezpośrednio przekładać na ciążę po terminie ze względu na złożoność samego procesu porodu przedwczesnego, pokazuje to jednak na możliwość wykazania różnic w stężeniach receptorów estrogenowych, a nie ich stałą liczbę na cm² powierzchni łożyska w momencie porodu.

W moim badaniu przeprowadziłam analizę jakościową ilości receptorów beta w łożysku. Bez względu na tydzień ciąży w którym doszło do porodu oraz fakt czy poród był indukowany, czy samoistny, nie wykazałam istotnych statystycznie różnic. Mimo próby oznaczenia receptora estrogenowego alfa, dla pełnej analizy oddziaływania estrogenów, nie uzyskano wybarwienia preparatów. Analizując retrospektywnie metodologię oraz przechowywanie próbek, były one jednakowe jak w przypadku receptora beta, tak więc brak było uchwytne powodu braku wybarwienia.

Zaobserwowane zmiany w stężeniach estradiolu w surowicy krwi, przy braku zmian w stężeniu receptora estrogenowego beta w łożysku należy odnieść do funkcji spełnianych przez te receptory. Dostępne w literaturze dane sugerują odmienny wpływ na komórkę receptorów estrogenowych, a mianowicie receptory alfa stymulują komórkę do proliferacji, a beta do dojrzewania. W 2003 roku Bukowsky i wsp. (82) w swoim badaniu udowodnili, że komórki początkowo ER alfa(+)/beta(-), różnicują się w stronę młodych komórek ER alfa(+)/beta(+) bądź dojrziałych ER alfa(-)/beta(+)(82) (Rycina 12). Ponadto zaobserwowali

oni również sukcesywny spadek receptorów beta już w dojrzałych komórkach, w miarę ich starzenia się.

Niestety żadne z powyższych danych nie tłumaczą zaobserwowanego przeze mnie wzrostu stężenia estradiolu w surowicy krwi ciężarnych wymagających indukcji porodu przy prawidłowej ilości receptorów estrogenowych beta.



Rycina 12. Uproszczony schemat ekspresji receptorów estrogenowych alfa i beta podczas asymetrycznego podziału i różnicowania komórek trofoblastu w łożysku *in vivo* wg. Bukowsky i wsp. (82).

pCT – komórka rodzicielska; dCT - komórka różnicująca się; mST – dojrzała komórka potomna; p – postmitotyczna komórka rodzicielska; d, postmitotyczna komórka potomna

6.3. Progesteron

Zgodnie z aktualnie obowiązującą wiedzą progesteron w przebiegu trwania ciąży, utrzymuje stan relaksacji mięśniówki macicy. Przedporodowo występuje jego funkcjonalny spadek, bez fizycznej zmiany stężenia w surowicy krwi, ze względu na zmniejszenie ekspresji receptorów progesteronowych (68).

W moim badaniu, przeanalizowane zostało stężenie progesteronu w surowicy krwi ciężarnych, celem sprawdzenia czy w ciąży po terminie występują zmiany w stężeniu progesteronu w surowicy krwi. Analizując zarówno pacjentki u których została przeprowadzona indukcja, jaki i rodzące samoistnie po 41 tygodniu, oraz przed 41 tygodniem, nie uzyskałam istotnych statystycznie różnic w średnich wartościach stężeń progesteronu. Wyniki mojego badania są spójne z aktualnie obowiązującą wiedzą odnośnie braku spadku przedporodowego progesteronu w surowicy krwi ciężarnej.

W 2010 roku ukazał się artykuł napisany przez Ziyan i wsp., którzy to przeprowadzili badanie dotyczące receptorów progesteronowych A i B w kosmkach łożyskowych u pacjentek rodzących zarówno przedwcześnie, o czasie oraz po terminie. Do badania włączono 40 pacjentek. Wykazali oni, że kluczowy do określenia ryzyka porodu przedwczesnego, czy porodu po terminie jest współczynnik ilości receptora A do B, przy braku istotnych różnic między pojedynczymi receptorami. Przedstawiony ostateczny wynik badania wykazuje, że współczynnik receptora progesteronowego A do B jest wyższy u pacjentek rodzących przedwcześnie, a niższy u tych, które rodzą po terminie (83).

Condon i wsp. 4 lata przed powyższym badaniem, w swoim badaniu dowiedli, że w rozpoczęciu porodu uczestniczy wzrost współczynnika ilości receptorów progesteronowych C do B, ale tych znajdujących się w miometrium dna macicy, a nie kosmków łożyskowych (84). Podobne badanie w 2007 roku przeprowadził Merlino i wsp. uzyskując porównywalne wyniki, tym razem wykorzystując komórki z niższych części ścian macicy niż dno (85).

W moim badaniu nie poddałam analizie receptorów progesteronowych, jednakże analiza stężeń progesteronu w surowicy krwi potwierdza teorię braku fizycznego spadku progesteronu a jedynie jego funkcjonalny spadek, nawet w ciąży po terminie.

6.4. Całkowity Status Antyoksydacyjny

Ciąża *per se* jest czynnikiem indukującym stres oksydacyjny, jednak pozostającym w stałej równowadze między oksydantami a antyoksydantami. Zaburzenie tej równowagi prowadzi do patologii. Wielkie nadzieje pokłada się w analizie Całkowitego Statusu Antyoksydacyjnego, jako czynnika diagnostycznego i prognostycznego wielu jednostek chorobowych w tym przewidywaniu ryzyka wystąpienia ciąży po terminie. Udowodniono, że wraz ze wzrostem czasu trwania ciąży wzrasta Całkowity Status Antyoksydacyjny m.in. ze względu na powiększające się łożysko, źródło wolnych rodników. Na kanwie tej teorii Kaya i wsp. (11) przeprowadzili badanie, w toku którego 50 kobiet po 41 tygodniu ciąży oraz kontrolnie 50 pacjentek przed 40 tygodniem zostało zbadanych w kierunku zaburzeń w stężeniach Całkowitego Statusu Antyoksydacyjnego. Wykazali oni, że w przypadku ciąży po terminie stężenie TAS jest obniżone, stąd doszli do wniosku, że w przypadku takiej ciąży mechanizmy porodowe nie zostają uruchomione a sam poród zostaje opóźniony (11). Stąd jednym z przedmiotów naszego badania, stała się analiza TAS jako predyktora ciąży po terminie oraz wykładnika nieskutecznej indukcji porodu.

Wbrew oczekiwaniom, w naszym badaniu nie udało się potwierdzić powyższej teorii. Wartości Całkowitego Statusu Antyoksydacyjnego w poszczególnych grupach były na granicy istotności statystycznej, z tendencją do wartości wyższych u pacjentek, które urodziły po 41 tygodniu ciąży. Analizując następnie fakt indukcji porodu lub samoistnie rozpoczętej czynności skurczowej macicy, wykazałam znacząco wyższe stężenia TAS w grupie pacjentek powyżej 41 tygodnia ciąży, wymagających interwencji. Informacja ta jest spójna z ogólnie przyjętą wiedzą mówiącą o wzroście stężenia TAS wraz z czasem trwaniem ciąży, jednak sprzeczne z wynikiem dostępnym w piśmiennictwie (11, 75, 76, 77, 78).

Uzyskując powyższy wynik, przeanalizowana została prognostyczna wartość TAS. Dowiedziono, że stężenie TAS jest istotnie statystycznie wyższe w grupie pacjentek, które wymagały interwencji, w stosunku do pacjentek rodzących samoistnie. Stąd wysunęłam wniosek, że im wyższe wartości TAS, tym większe prawdopodobieństwo, że indukcja porodu będzie konieczna. Całkowity Status Antyoksydacyjny nie był dobrym parametrem

prognostycznym skuteczności preindukcji, indukcji porodu oraz czasu trwania porodu, czy też sposobu jego ukończenia.

Uzyskany przeze mnie wynik, tak różny od aktualnie jedyne go dostępnego w piśmiennictwie badania, sugeruje konieczność poszerzenia diagnostyki w tym kierunku, zwiększając grupy badane oraz wydłużając obserwacje przedporodowych stężeń TAS.

6.5. Stężenia kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a skuteczność preindukcji oraz indukcji

Biorąc pod uwagę złożoność procesów biorących udział w rozpoczęciu porodu, zasadnym wydaje się poszukanie elementu, który precyzowałby szansę na skuteczną indukcję porodu.

W moim badaniu nie wykazano żadnych różnic pomiędzy stężeniem kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu czy TAS, a skutecznością preindukcji oraz indukcji w grupie badanej. Choć w piśmiennictwie wiele jest badań dotyczących wyższości jednych metod preindukcji nad innymi, w bazie Pubmed nie znalazłam badań traktujących bezpośrednio o prognostycznej wartości stężeń kortykoliberyny, progesteronu czy TAS w stosunku do skutecznej preindukcji porodu.

Jedynie badania odnoszą się do stężeń estradiolu w surowicy krwi. Torricelli i wsp. (71) w pracy analizującej czynniki wpływające na skuteczność indukcji porodu objęli analizą stężenie estradiolu w surowicy krwi ciężarnych. Zaobserwowali oni, że stężenie estradiolu jest istotnie statystycznie wyższe w przypadku pacjentek, które nie odpowiedziały na indukcję porodu, a ciąża zakończyła się operacyjnie (71).

W moim badaniu mimo istotnie statystycznie wyższych wartości estradiolu w grupie badanej w stosunku do kontrolnych, analizując samą grupę badaną pod względem skuteczności indukcji, nie uzyskano istotnych statystycznie różnic w stężeniu.

6.6. Stężenia kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a ilość wykonanych preindukcji oraz czas który upłynął do uzyskania skutecznej indukcji porodu

Wśród metod preindukcji wyróżniamy te, których zadaniem jest głównie działanie mechaniczne, jak w przypadku cewnika Foleya oraz te które zawierając prostaglandyny, doprowadzają do dojrzałości szyjki macicy jak dinoproston. Celem analizy skuteczności preindukcji, pacjentki zostały podzielone pod względem ilości wykonanych preindukcji, niezależnie od zastosowanego sposobu. Analizując stężenie kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS, nie wykazałam istotnych statystycznie różnic, mimo tego, że część pacjentek odpowiadała na preindukcję zaraz po jej zastosowaniu, a część wymagała większej ilości preindukcji. Następnie przeprowadziłam analizę czasu niezbędnego do uzyskania skutecznej indukcji t.j. porodu, w zależności od wyjściowych (pobranych w momencie rozpoczęcia indukcji) stężeń CRH, estradiolu, progesteronu i TAS.

W moim badaniu stężenia kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS nie miały wartości prognostycznej zarówno w określeniu skuteczności preindukcji jak i szacowaniu czasu niezbędnego do uzyskania skutecznej indukcji porodu.

6.7. Stężenia kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a konieczność zastosowania oksytocyny celem indukcji porodu, bądź stymulacji czynności skurczowej podczas porodu.

W moim badaniu u pacjentek, u których bez względu na wykonanie preindukcji, ale mających dojrzałą szyjkę macicy, celem indukcji porodu włączano oksytocynę. Ponownie została podjęta próba określenia wartości prognostycznej stężeń kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu i TAS na skuteczność indukcji porodu. Nie wykazałam korelacji między stężeniem kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu, TAS, a koniecznością zastosowania oksytocyny celem indukcji porodu. Jednakże wartości estradiolu oraz progesteronu znajdowały się na granicy istotności statystycznej, z najwyższymi wartościami średnimi obu tych parametrów

w grupie wymagającej dwukrotnej indukcji oksytocyną, stąd dalsze badania, z większą grupą badawczą mogłyby pozwolić na określenie znaczenia powyższych parametrów.

Jak wspomniano wyżej już Torricelli i wsp. (71) zaobserwowali wyższe stężenia estradiolu u pacjentek nie odpowiadających na indukcję oksytocyną, stąd moje badanie niejako zbliża się do potwierdzenia powyższej hipotezy. Ze względu na wynik na granicy istotności statystycznej należy powyższe rozważania traktować jedynie jako wskazówkę do dalszych badań a nie wniosek *stricte* w tego słowa znaczeniu.

6.8. Stężenia kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a sposób ukończenia ciąży

W grupie pacjentek rodzących po 41 tygodniu ciąży po przeprowadzonej wcześniej preindukcji bądź indukcji, analizie poddano sposób ukończenia ciąży uwzględniając poród operacyjny – cięcie cesarskie, poród operacyjny drogą pochwową przy użyciu wyciągacza próżniowego oraz poród siłami natury. Analizując powyższe sposoby ukończenia ciąży w odniesieniu do stężeń badanych parametrów, nie znaleziono zależności. Ponadto warto zauważyć, że odsetek cięć cesarskich w badanej grupie wynosił 33%, choć wciąż nie jest to procent zalecany przez WHO, a mianowicie 10-15%, nadal jest to wynik niższy niż średnia krajowa, która wynosi w Polsce 43,85% (86, 87). Stanowisko NICE odnośnie ryzyka cięcia cesarskiego podkreśla, że ciąża po terminie, ale przed 42 tygodniem, nie zwiększa ryzyka porodu operacyjnego (26), co zostało wykazane również w moim badaniu.

6.9. Stężeniami kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a czas trwania poszczególnych okresów porodu.

Ostatnim elementem analizy została objęty czas trwania porodu w zależności od stężeń hormonalnych przed rozpoczęciem indukcji. Choć nie jest to czynnik determinujący kwalifikację pacjentki do próby indukcji porodu, moim zdaniem istotne jest odpowiednie przygotowanie, a mianowicie oszacowanie czasu trwania porodu oraz jego możliwego przebiegu. W moim materiale wykazałam zależność pomiędzy stężeniami progesteronu

a czasem trwania porodu. Progesteron jako czynnik relaksujący mięsień macicy, wpływał na wolniejszy przebieg I i II okresu porodu. Uzyskano zależność, że im wyższe przedporodowe stężenia progesteronu tym dłuższy czas trwania I i II okresu porodu. Natomiast nie wykazałam korelacji między stężeniami estradiolu czy TAS a czasem trwania porodu. W moim badaniu przeanalizowałam również kortykoliberynę jako czynnik prognostyczny czasu trwania porodu, a uzyskany wynik znajdował się na granicy istotności statystycznej w przypadku I okresu porodu, stąd w przypadku powtórnych badań, być może większa liczebność grupy pomogłaby być rozstrzygnąć znaczenie wpływu kortykoliberyny na długość jego trwania.

Wyniki przeprowadzonego przeze mnie badania potwierdzają złożoność jak i nieprzewidywalność procesu rozpoczęcia porodu. W dalszym badaniu różnych czynników mających wpływ na poród, wydaje mi się, że bardzo korzystnym byłoby przeprowadzenie badania sekwencyjnego w określonych odstępach czasu, co ukazywałoby dynamikę zmian hormonalnych zachodzących w przebiegu ciąży i porodu

7. WNIOSKI

1. W ciąży po terminie zostaje zaburzony mechanizm *up-regulation* receptora CRH-R2, bez zaburzeń we wzroście ekspresji CRH R1, co utrudnia zainicjowanie porodu mimo prawidłowych stężeń kortykoliberyny zarówno w osoczu jak i łożysku.
2. Stężenie stresu oksydacyjnego w ciąży, po terminie porodu wykazuje prawidłowy wzrost, nie będąc czynnikiem warunkującym wydłużenie czasu trwania ciąży.
3. Stężenie progesteronu w surowicy krwi ciężarnej jest wprost proporcjonalne do czasu trwania I i II okresu porodu, w ciąży po 41 tygodniu.
4. Czas trwania ciąży powyżej 41 tygodnia oraz skuteczności preindukcji oraz indukcji porodu, nie zależy od stężenia estradiolu, progesteronu oraz kortykoliberyny.

8. STRESZCZENIE

Ciąża po terminie stanowi istotny klinicznie problem ze względu na dużą częstość występowania - od 4 do 19%. Kontynuowanie ciąży powyżej 41 tygodnia wiąże się ze zwiększoną ilością powikłań zarówno matczynych jak i płodowych oraz noworodkowych.

Mechanizm inicjacji porodu nie został jeszcze do końca poznany. Wśród wielu teorii, podkreślana jest rola krążących hormonów w ustroju ciężarnej, zarówno ich stężeń w surowicy krwi jak i łożysku. Wykazano, że fizjologicznie podczas ciąży występuje wykładniczy wzrost stężenia CRH, z pikiem wzrostowym tuż przed porodem. Ponadto następowo dochodzi do wzrostu stężenia estradiolu wraz ze spadkiem progesteronu, który to doprowadza do przejścia komórek myometrium ze stanu relaksacji do stanu kurczliwego. Wśród nowych teorii ciąży po terminie podkreśla się znacznie zaburzenia we wzroście stresu oksydacyjnego.

Celem pracy było określenie wartości predykcyjnej zmian w stężeniach wybranych hormonów w surowicy krwi ciężarnych i w łożysku oraz parametrów stresu oksydacyjnego w ustroju w powodzeniu indukcji porodu u pacjentek po 41 tygodniu ciąży. Cel pracy realizowany był przez:

1. Ocenę stężeń wybranych hormonów (progesteron, estradiol, CRH) oraz Całkowitego Statusu Antyoksydacyjnego w surowicy krwi ciężarnych przed porodem.
2. Ocenę stężenia CRH oraz receptorów CRH R1, CRH R2, ER alfa i ER beta w łożysku po porodzie.
3. Określenie zależności między stężeniami kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a skuteczność preindukcji oraz czasem który upłynął do uzyskania skutecznej indukcji porodu.
4. Ocenę zależności między stężeniami kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu oraz TAS a koniecznością zastosowania oksytocyny celem indukcji porodu, bądź podczas porodu oraz sposobem ukończenia ciąży i czasem trwania poszczególnych okresów porodu.

Badaniami objęto łącznie 163 kobiety hospitalizowane w Klinice Perinatologii i Ginekologii Katedry Perinatologii i Ginekologii oraz na Oddziale Porodowym Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, pomiędzy wrześniem 2015, a marcem 2018 roku. Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym imienia Karola Marcinkowskiego w Poznaniu wyraziła zgodę na przeprowadzenie badania.

Grupę badaną stanowiły pacjentki, u których nie doszło do samoistnego rozpoczęcia porodu po ukończonym 41 tygodniu ciąży ($n=114$). Grupa kontrolna została podzielona na 2 podgrupy: pacjentki u których poród rozpoczął się samoistnie przed 41 tygodniem ciąży ($n=24$) oraz ciężarne u których poród rozpoczął się samoistnie po ukończonym 41 tygodniu ciąży ($n=23$).

U wszystkich pacjentek przeprowadzono weryfikację wieku ciążowego biorąc pod uwagę ultrasonograficzny pomiar długości ciemieniowo-siedzeniowej w I trymestrze ciąży. W grupach badanych zastosowano następujące kryteria wykluczające włączenie do grupy: ciąża mnoga, poród przedwczesny, choroby układu sercowo-naczyniowego, choroby metaboliczne, choroby nowotworowe, choroby zapalne oraz choroby autoimmunologiczne.

Materiał do badania stanowiła krew żylna oraz łożysko. Z surowicy krwi oznaczono stężenia progesteronu i estradiolu według standardowego protokołu, kortykoliberynę z wykorzystaniem komercyjnego zestawu ELISA Kit for Corticoliberin oraz Całkowity Status Antyoksydacyjny przy pomocy zestawu Randox *Total Antioxidant Status* na aparacie COBAS firmy Roche. Fragmenty łożysk wybarwiano przeciwciałami monoklonalnymi w kierunku obecności kortykoliberyny, receptora dla kortykoliberyny R1, R2 oraz receptora estrogenowego alfa i beta. Do analizy statystycznej użyto programu Statistica w wersji 13 firmy StatSoft.

Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w stężeniach kortykoliberyny w surowicy krwi czy w jakościowej ocenie ilości CRH, CRH receptora 1 w łożysku w grupach badanych, natomiast wykazano różnice w ekspresji receptora 2, z istotnie statystycznie większą w grupie pacjentek, u których poród rozpoczął się samoistnie przed 41 tygodniem. Największe stężenia estradiolu wykazano w grupie badanej, natomiast najniższą u pacjentek u których poród rozpoczął się

samoistnie przed 41 tygodniem. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w jakościowej ocenie receptora estrogenowego Beta w łożysku u ciężarnych z grup badanych. Ponadto nie wykazano różnic w stężeniu progesteronu oraz Całkowitym Statusie Antyoksydacyjnym w surowicy krwi ciężarnych w grupach badanych.

Nie stwierdzono korelacji między stężeniem kortykoliberyny, estradiolu, progesteronu, Całkowitego Statusu Antyoksydacyjnego, a skutecznością preindukcji oraz indukcji porodu. Ponadto nie wykazano zależności pomiędzy powyższymi parametrami a sposobem ukończenia ciąży. Nie stwierdzono istotnej statystycznie zależności pomiędzy stężeniem kortykoliberyny, estradiolu, Całkowitego Statusu Antyoksydacyjnego w grupie badanej, a czasem trwania I i II okresu porodu. Natomiast analizując stężenia progesteronu, wykazano, że wyższe stężenia sprzyjały dłuższemu czasowi trwania I i II okresu porodu.

Wnioski

1. W ciąży po terminie zostaje zaburzony mechanizm *up-regulation* receptora CRH-R2, bez zaburzeń we wzroście ekspresji CRH R1, co utrudnia zainicjowanie porodu mimo prawidłowych stężeń kortykoliberyny zarówno w osoczu jak i łożysku.
2. Stężenie stresu oksydacyjnego w ciąży, po terminie porodu wykazuje prawidłowy wzrost, nie będąc czynnikiem warunkującym wydłużenie czasu trwania ciąży.
3. Stężenie progesteronu w surowicy krwi ciężarnej jest wprost proporcjonalne do czasu trwania I i II okresu porodu, w ciąży po 41 tygodniu.
4. Czas trwania ciąży powyżej 41 tygodnia oraz skuteczności preindukcji oraz indukcji porodu, nie zależy od stężenia estradiolu, progesteronu oraz kortykoliberyny.

9. SUMMERY

Postterm pregnancy is a clinically significant problem due to the high incidence – 4 to 19%. Continuing pregnancy above 41 weeks is associated with increased number of complications both maternal, fetal and neonatal.

The mechanism of labor initiation has not been fully understood yet. Among many theories, the role of hormones is emphasized, both the circulating and inside the placenta. It has been proven, that during physiological pregnancy, the corticoliberin levels grow exponentially with a rapid grow just before the delivery. Additionally, then there is an increase of estrogen concentration together with drop in progesterone concentration, what leads to the transition of myometrial cells from relaxation to the contractile state. Among new theories of postterm pregnancies, the role of disturbance in growth of oxidative stress is emphasized.

The aim of this study was to determine the predictive value of changes in concentrations of selected hormones in pregnant blood serum and the placenta and the oxidative stress parameters in successful labor induction. Aim of the study was carried out by:

1. Estimating the selected hormones levels (progesterone, estradiol, CRH) and the total antioxidant state in the blood serum of pregnant women before delivery.
2. Estimating the concentration of CRH and CRH R1, CRH R2, ER alfa and ER beta in placenta after delivery.
3. Determine the relationship between blood concentrations of corticoliberin, estradiol, progesterone, TAS and the preinduction efficiency and the time needed to obtain successful labor induction.
4. Determine the relationship between blood concentrations of corticoliberin, estradiol, progesterone, TAS and the need for oxytocin use to induce or during delivery , the way of delivery and periods of childbirth duration.

The study and control groups consisted of 163 women hospitalized and diagnosed at the Department of Perinatology and Gynecology, Poznan University of Medical Sciences, between September 2015 and March 2018. Bioethics Committee at the Poznan University of Medical Sciences has agreed to carry out the study.

Study group consisted of pregnant patients, who did not deliver till 41 weeks of gestation (n=114). The control group was divided into two groups: patients with whom delivery started spontaneously before 41 weeks of gestation (n=24) and pregnant patients with whom delivery started spontaneously after 41 weeks of gestation (n=23). Age of every pregnancy was verified with the CRL measured in the first trimester ultrasound. The following exclusion criteria was applied: multiple pregnancies, preterm delivery, cancers, cardiovascular system, metabolic, inflammatory and autoimmune diseases.

Blood serum and placenta were obtained from the patients. From the blood serum progesterone and estradiol levels were determined according to the standard protocol, corticoliberin with the ELISA Kit for Corticoliberin and the Total antioxidant state using the Randox *Total Antioxidant Status* Set on the Cobas Device made by Roche Company. Pieces of the placenta were stained with monoclonal antibodies towards corticoliberin, corticoliberin receptor 1, 2 and estrogen receptor alfa and beta. StatSoft Statistica v.13 was used for statistical analysis.

No statistically significant differences were found in corticoliberin concentrations in blood or in qualitative assessment of quantity of CRH, CRH R1 in placenta between the research groups, but the corticoliberin receptor 2 had a statistically higher expression in a control group, where delivery started spontaneously before 41 weeks of gestation. The highest estradiol concentrations were in study, while the lowest in a control group, where delivery started spontaneously before 41 weeks of gestation. No statistically significant differences were found in qualitative assessment of quantity of estrogen receptor Beta in the placenta of research groups. Moreover, no statistically significant differences in progesterone and TAS were found in research groups.

There was no correlation between CRH, estradiol and progesterone concentrations and TAS and preinduction and induction efficiency. Furthermore, there was no correlation between above parameters and the way of ending pregnancy. There was no statistically significant correlation between CRH, estradiol and progesterone concentrations and TAS in a study group and the time of I and II delivery period. While in case of progesterone higher concentrations implicated longer I and II labor period.

Conclusions:

1. In the postterm pregnancy, the up-regulation of CRH R2 receptor is disturbed with no change in CRH R1 expression, what makes labor initiation more difficult despite correct corticoliberin levels in both blood serum and the placenta.
2. Total antioxidant stress, which is mainly a result of growing placenta, after term of delivery shows appropriate growth, not being a risk factor of postterm delivery.
3. The progesterone concentrations in blood serum of pregnant women, directly affects the length of longer I and II stage of delivery.
4. Pregnancy duration above 41 weeks and effectiveness of preinduction or induction of labor do not depend on estradiol, progesterone and corticoliberin concentrations.

10. PIŚMIENNICTWO

1. Clifford SH. Postmaturity with placental dysfunction. Clinical syndromes and pathologic findings. J Pediatr 1954; 44:1
2. Ballantyne JW. The problem of the postmature infant. 1902, Vol II no6:36
3. Bręborowicz GH, Paszkowski T. Medycyna matczyno-płodowa, Położnictwo tom 2, Wydawnictwo lekarskie PZWL 2012:41-44
4. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG practice bulletin. Clinical management guidelines for obstetricians-gynecologist. No. 55, September 2004 (replaces practice pattern no. 6, October 1997). Management of postterm pregnancy. ACOG Committee on Practice Bulletins-Obstetrics. Obstet Gynecol 2004;104:639-46.
5. Bręborowicz GH, Bręborowicz A, Kawka-Paciorkowska K. Ciąża po ukończeniu 41. tygodnia. Sytuacje kliniczne w położnictwie. 2016; wyd.II:208-211
6. Laursen M, Bille C, Olesen AW, Hjelmberg J i wsp. Genetic influence on prolonged gestation: a population - based Danish twin study. Am J Obstet Gynecol. 2004;190:489-94
7. Olesen AW, Basso O, Olsen J. An estimate of tendency to repeat postterm delivery. Epidemiology 1999; 10:468-9
8. Olesen AW, Basso O, Olsen J. Risk of recurrence of prolonged pregnancy. BMJ 2003;326:476
9. Męczekalski B. Endokrynologia ciąży. Wydawnictwo lekarskie PZWL 2012, wyd. I
10. Sahlin L, Sternholm-Vladic Y, Roos N, Masironi B, Ekman-Ordeberg G. Impaired leukocyte influx in cervix of postterm birth: familial clustering in a population-based sample of 474,429 Swedish births. Am.J.Epidemiol., 2013, 177: 531-537
11. Kaya S, Keskin HL, Kaya B, Ustuner I, Avsar AF. Reduced total antioxidant status in postterm pregnancies. Hippokratia, 2013; 17:55-59
12. Speert H. Obstetrics and Gynecology in America: A history. 1980. Baltimore, Waverly Press
13. York R. The history of induction. Midwife Health Visit Community Nurse 1984;20:109-116
14. Keirse MJ. Het inleiden van de baring - een eeuwenoude strijd voor heerschappij over de zwangerschapsduur. Obstetrische interventies - Geschiedenis en technieken. Medicom Europe B.V.; 1991;115-133
15. Kloosterman GJ. Over het kunstmatig opwekken der baring in de tweede helft der zwagnerschap door middel van een condoomcatheter. Nederlands Tijdschrift voor Verloskunde en Gynaecologie 1947;19-62

16. Theobald GW, Graham A. The use of post-pituitary extract in physiological amounts in obstetrics; a preliminary report. *Br Med J* 1948;2:123-127
17. du Vigneaud V. The sequence of amino-acids in oxytocin with proposal for the structure of oxytocin. *Journal of Biological Chemistry* 1953;205:949-57
18. Benrubi GI. Labour induction: historic perspectives. *Clin Obstet Gynecol* 2000;43:429-432
19. von Euler US. Ueber die spezifische blutdrucksenkende Substanz des menschlichen Prostata- und Samenblasensekretes. *Klinische Wochenschrift* 1935;14:1182-1183
20. Karim SM, Trussell RR, Patel RC, Hillier K. Response of pregnant human uterus to prostaglandin-F₂-alpha-induction of labour. *Br Med J* 1968;4:621-623
21. Calder A, Embrey MP. Letter: Prostaglandins and the unfavourable cervix. *Lancet* 1973;2:1322-1323
22. Bomba-Opoń D, Drews K, Huras H. Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego dotyczące indukcji porodu. *Ginekologia i Perinatologia Praktyczna* 2017 tom2 nr2:58-71
23. Martin JA, Hamilton BE, Sutton PD, Ventura SJ i wsp. Births: final data for 2002. *Natl Vital Stat Rep* 2003;52:1-113
24. Crowley P. WITHDRAWN: interventions for preventing or improving the outcome of delivery at or beyond term. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;18:CD000170
25. ACOG Practice Bulletin Number 146. Management of late-term and postterm pregnancies. *Obstet Gynecol* 2014; 124:390-396
26. NICE Clinical guideline CG70. Induction of labour. 2008. Evidence update 2013.
27. SOGC clinical practice guideline: Induction of labour: Review. 2013 – reviewed 2015.
28. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 16 sierpnia 2018 r. w sprawie standardu organizacyjnego opieki okołoporodowej, Dz.U. 2018 poz.1756
29. Budden A, Chen LJY, Henry A. High-dose versus low-dose oxytocin infusion regimens for induction of labour at term. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014(10): CD009701,
30. Maslovitz S, Lessing JB, Many A. Complications of trans-cervical Foley catheter for labor induction among 1,083 women. *Arch Gynecol Obstet*. 2010; 281(3):473-477
31. Grammatopoulos DK. Placental Corticotropin-Releasing Hormone and its Receptors in Human Pregnancy and Labour: Still a Scientific Enigma. *Journal of Neuroendocrinology*. 2008; 20:432-438
32. Makrigiannakis A, Zoumakis E, Kalantaridou S, Chrousos G, Gravanis A. Participation of maternal and fetal CRH in early phases of human implantation: the role of antalarmin. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord* 2004; 4:75-78

33. Grino M, Chrousos GP, Margioris AN. The corticotropin releasing hormone gene is expressed in human placenta. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 148:1208-1214.
34. Florio P, Zatelli MC, Reis FM, degli Uberti EC, Petraglia F. Corticotropin Releasing Hormone: a Diagnostic Marker for Behavioral and Reproductive Disorders? *Front Biosci* 2007; 12:551-560
35. Smith R. Parturition. *N Engl J Med* 2007; 356:271-283
36. Smith R, Nicholson RC. Corticotrophin releasing hormone and the timing of birth. *Front Biosci* 2007; 12: 912–918
37. McLean M, Bisits A, Davies J, Woods R i wsp. A placental clock controlling the length of human pregnancy. *Nat Med* 1995; 1:460-463
38. Florio P, Cobellis L, Woodman J, Severi FM i wsp. Levels of maternal plasma corticotropin-releasing factor and urocortin during labor. *J Soc Gynecol Investig* 2002; 9: 233-237
39. Campbell EA, Linton EA, Wolfe CDA, Scraggs PR i wsp. Plasma corticotropin releasing hormone concentrations during pregnancy and parturition. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 63:1054-1059
40. Petraglia F, Potter E, Cameron VA, Sutton S i wsp. Corticotropin-releasing factor-binding protein is produced by human placenta and intrauterine tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77:919-924
41. Linton EA, Perkins AV, Woods RJ, Eben F i wsp. Corticotropin releasing hormone-binding protein: plasma levels decrease during the third trimester of normal human pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76: 260-262
42. Perkins AV, Eben F, Wolfe CDA, Schulte HM, Linton EA. Plasma measurements of corticotropin-releasing hormone-binding protein in normal and abnormal human pregnancy. *J Endocrinol* 1993; 138: 149-157
43. Petraglia F, Florio P, Benedetto C, Gallo C i wsp. High levels of corticotropin-releasing factor (CRH) are inversely correlated with low levels of maternal CRH-binding protein in pregnant women with pregnancy-induced hypertension. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 852-856
44. Grammatopoulos DK. The role of CRH receptors and their agonists in myometrial contractility and quiescence during pregnancy and labour. *Front Biosci* 2007; 12: 561–571.
45. Florio P, Franchini A, Reis FM, Pezzani I i wsp. Human placenta, chorion, amnion and decidua express different variants of corticotropin-releasing factor receptor messenger RNA. *Placenta* 2000; 21:32–37
46. Hillhouse EW, Grammatopoulos DK. The molecular mechanisms underlying the regulation of the biological activity of corticotropin-releasing hormone receptors: implications for physiology and pathophysiology. *Endocr Rev* 2006; 27:260-286
47. Gao L, Tao Y, Hu T, Liu W i wsp. Regulation of Estradiol and Progesterone Production by CRH-R1 and -R2 Is through Divergent Signaling Pathways in Cultured Human Placental Trophoblasts. *Endocrinology* 2012; 153(10):4918-4928

48. Karteris E, Hillhouse EW, Grammatopoulos DK. Urocortin II is expressed in human pregnant myometrial cells and regulates myosin light chain phosphorylation: potential role of the type-2 corticotropin-releasing hormone receptor in the control of myometrial contractility. *Endocrinology* 2004; 145: 890–900
49. Europe-Finner GN, Phaneuf S, Tolkovsky AM, Watson SP, Lopez Bernal A. Down-regulation of G alpha s in human myometrium in term and preterm labor: a mechanism for parturition. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 1835–1839
50. Grammatopoulos D, Hillhouse EW. Activation of protein kinase C by oxytocin inhibits the biological activity of the human myometrial corticotropin-releasing hormone receptor at term. *Endocrinology* 1999; 140: 585-594
51. Karalis K, Goodwin G, Majzoub JA. Cortisol blockade of progesterone: a possible molecular mechanism involved in the initiation of human labor. *Nat Med* 1996; 2:556-560
52. Florio P, Lowry PJ, Benedetto C, Galleri L i wsp. Maternal plasma corticotropin releasing factor and CRF-binding protein (CRF-BP) levels in post-term pregnancy: effect of prostaglandin administration. *Eur J Endocrinol* 2007; 157:279-284
53. Mastorakos G, Ilias I. Maternal and fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axes during pregnancy and postpartum. *Ann NY Acad Sci* 2003; 997:136-149
54. Smith R, Mesiano S, Chan EC, Brown S, Jaffe RB. Corticotropin-releasing hormone directly and preferentially stimulates dehydroepiandrosterone sulfate secretion by human fetal adrenal cortical cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:2916–2920
55. Sirianni R, Rehman KS, Carr BR, Parker CR Jr, Rainey WE. Corticotropin-releasing hormone directly stimulates cortisol and the cortisol biosynthetic pathway in human fetal adrenal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:279–285
56. Sirianni R, Mayhew BA, Carr BR, Parker CR Jr, Rainey WE. Corticotropin-releasing hormone (CRH) and urocortin act through type 1 CRH receptors to stimulate dehydroepiandrosterone sulfate production in human fetal adrenal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 5393–5400
57. Rehman KS, Sirianni R, Parker CR Jr, Rainey WE, Carr BR. The regulation of adrenocorticotrophic hormone receptor by corticotropin-releasing hormone in human fetal adrenal definitive / transitional zone cells. *Reprod Sci* 2007; 14: 578–587
58. McLean M, Smith R. Corticotropin-releasing Hormone in Human Pregnancy and Parturition. *Trends Endocrinol Metab* 1999; 10(5):174-178
59. Yang R, You X, Tang X, Gao L, Ni X. Corticotropin-releasing hormone inhibits progesterone production in cultured human placental trophoblasts. *J Mol Endocrinol* 2006; 37:533–540
60. You X, Yang R, Tang X, Gao L, Ni X. Corticotropin-releasing hormone stimulates estrogen biosynthesis in cultured human placental trophoblasts. *Biol Reprod* 2006; 74:1067–1072

61. Mesiano S. Roles of estrogen and progesterone in human parturition. *Front Horm Res* 2001;27:86-104
62. Challis JR, Lye SJ. Parturition. *Oxf Rev Reprod Biol* 1986;8:61-129
63. Wang WS, Liu C, Li WJ, Zhu P i wsp. Involvement of CRH and hCG in the induction of aromatase by cortisol in human placental syncytiotrophoblasts. *Placenta* 2014; 35:30-36
64. Escobar JC, Patel SS, Beshay VE, Suzuki T, Carr BR. The human placenta expresses CYP17 and generates androgens *de novo*. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 1385 – 1392
65. Wang W, Li J, Ge Y, Li W i wsp. Cortisol induces aromatase expression in human placental syncytiotrophoblasts through the cAMP/Sp1 pathway. *Endocrinology* 2012;153(4):2012-2022
66. Challis JRG, Hatthews SG, Gibb W, Lye SJ i wsp. Endocrine and paracrine regulation of birth at term and preterm. *Endocr Rev* 2000; 21:514-550
67. Rezapour M, Backstrom T, Lindblom B, Ulmsten U. Sex steroid receptors and human parturition. *Obstet Gynecol.* 1997;89:918–24
68. Boroditsky RS, Reyes FI, Winter JS, Faiman C. Maternal serum estrogen and progesterone concentrations preceding normal labour. *Obstet Gynecol.* 1978;51:686–91
69. Buster JE, Chang RJ, Preston DL, Elashoff RM i wsp. Interrelationships of circulating maternal steroid concentrations in third trimester pregnancies. II. C18 and C19 steroids: estradiol, estriol, dehydroepiandrosterone, dehydroepiandrosterone sulfate, delta 5-androstenediol, delta 4-androstenedione, testosterone, and dihydrotestosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1979;48(1):139-142.
70. Doganay M, Erdemoglu E, Avsar AF, Aksakal OS. Maternal serum levels of dehydroepiandrosterone sulfate and labor induction in postterm pregnancies. *Int J Gynaecol Obstet* 2004;85(3):245-249
71. Torricelli M, Novembri R, Voltolini C, Conti N i wsp. Biochemical and biophysical predictors of the response to the induction of labor in nulliparous postterm pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2011; 204(1):39.e1-39.e6
72. Cheeseman KH, Slatter TF. An introduction to free radical bio-chemistry. *Br Med Bull.* 1993; 49: 481-493
73. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA i wsp. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med.* 1987; 107: 526-545.3
74. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomark-ers of tissue damage. *Clin Chem.* 1995; 41: 1819-1828
75. Cui XL, Brockman D, Campos B, Myatt L. Expression of NADPH oxidase isoform 1 (Nox1) in human placenta: involve-ment in preeclampsia. *Placenta.* 2006; 27: 422-431

76. Mueller A, Koebnick C, Binder H, Hoffmann I i wsp. Placental defence is considered sufficient to control lipid peroxidation in pregnancy. *Med Hypotheses*. 2005; 64: 553-557.
77. Takehara Y, Yoshioka T, Sasaki J. Changes in the levels of lipoperoxide and antioxidant factors in human placenta during gestation. *Acta Med Okayama*. 1990; 44: 103-111.21.
78. Yoshioka T, Ando M, Taniguchi K, Yamasaki F, Motoyama H. Lipoperoxidation and antioxidant substances in the human placenta during gestation]. *Nihon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi*. 1990; 42: 1634-1640.
79. Jędrzejczak-Pospiech K, Błaszczuk J. The effect of lutein on the total antioxidant status in human blood. *Klinika Oczna*. 2018;(4):220-223. doi:10.5114/ko.2017.76212.
80. Rother M, Bogunia E, Morek M. Ekspresja i immunolokalizacja aromatazy oraz receptorów estrogenowych alfa i beta w łożyskach pochodzących z porodów termimnowych i przedwczesnych. *Farm Przegl Nauk* 2010, 1:8-15
81. Kim SC, Park M, Lee Y, Joo JK, An BS. Interaction of steroid receptor coactivators and estrogen receptors in the human placenta. *J Mol Endocrinol* 2016; 56:3:239-247
82. Bukovsky A, Caudle M, Cekanova M, Fernando RI i wsp. Placental expression of estrogen receptor beta and its hormone binding variant – comparison with estrogen receptor alpha and a role for estrogen receptors in asymmetric division and differentiation of estrogen dependent cells. *Reprod Biol Endocrinol*. 2003; 1:36
83. Ziyen J, Huaibin R, Xiaotian M, Guangtong S i wsp. Regulation of progesterone receptor A and B expression in human preterm, term and postterm placental villi. *Acta Obstetricia et Gynecologica*. 2010; 89:705-711
84. Condon JC, Hardy DB, Kovaric K, Mendelson CR. Upregulation of progesterone receptor (PR)-C isoform in laboring myometrium by activation of nuclear factor kappaB may contribute to the onset of labour through inhibition of PR function. *Mol Endocrinol*. 2006;20:764-75
85. Merlino AA, Welsh TN, Tan H, Yi LJ i wsp. Nuclear progesterone receptors in the human pregnancy myometrium: evidence that parturition involves functional progesterone withdrawal mediated by increased expression of progesterone receptor-A. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:1927-33
86. World Health Organization Human Reproduction Programme, 10 April 2015. WHO Statement on caesarean section rates. *Reprod Health Matters*. 2015; 23(45): 149–150.
87. Wielgoś M, Bomba-Opoń D, Bręborowicz GH, Czajkowski K i wsp. Recommendations of the Polish Society of Gynecologists and Obstetricians regarding caesarean sections. *Ginekol Pol* 2018;89(11):644-657.