



UNIVERZITET U NIŠU  
MEDICINSKI FAKULTET

**Marija S. Tasić**

**KLINIČKI ZNAČAJ  
INTRAAMNIJALNE INFLAMACIJE KOD  
PREVREMENIH POROĐAJA**

Doktorska disertacija

Niš, 2014



UNIVERSITY IN NIS  
FACULTY OF MEDICINE

**Marija S. Tasic**

**THE CLINICAL SIGNIFICANCE OF INTRA-AMNIOTIC  
INFLAMMATION IN PRETERM BIRTHS**

Doctoral thesis

Niš, 2014

**MENTOR: Prof. dr Borislav Kamenov - Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet**

**Članovi komisije:**

1. Prof. dr Jasmina Popović, predsednik- Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet
2. Prof. dr Borislav Kamenov, mentor i član- Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet
3. Prof. dr Tihomir Vejnović, član- Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet
4. Doc. dr Dragana Radović-Janošević, član- Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet
5. Doc. dr Milan Stefanović- Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet

Datum odbrane \_\_\_\_\_

**Mojoj majci**

**i mome ocu**

skrivenom među zvezdama,

**Nataliji i Nikoli**

# KLINIČKI ZNAČAJ INTRAAMNIJALNE INFLAMACIJE KOD PREVREMENIH POROĐAJA

## Rezime

**CILJ ISTRAŽIVANJA:** Cilj ovog istraživanja je da determiniše frekvencu, kliničke karakteristike i značaj intraamnijalne inflamacije kod pacijenata sa prevremenim porođajem.

**SUBJEKTI I METODE:** Istraživanje je sprovedeno po tipu prospektivne, randomizirane studije. Ispitanice su podeljene u 2 grupe. Eksperimentalnu grupu čine pacijentkinje sa jednoplodnom trudnoćom i dijagnozom prevremenog porođaja. Kontrolnu grupu čine pacijentkinje sa jednoplodnom trudnoćom porođene u terminu. Poređenje opisnih i numeričkih obeležja vršeno je između ispitanica eksperimentalne i kontrolne grupe, kao i među ispitanicama eksperimentalne grupe u odnosu na prisustvo abnormalne kolonizacije donjeg genitalnog trakta, nivo IL-6 u amnionskoj tečnosti i HP nalaz placente i plodovih ovoja. Amnionska tečnost uzimana je putem transabdominalne amniocenteze, centrifugirana i zamrzavana na  $-70^{\circ}\text{C}$ . Koncentracija interleukina-6 određivana je visokosenzitivnim kolorimetrijskim ELISA testom (R&D Systems) čija je senzitivnost  $<1\text{pg/ml}$ . Frekvencije pojedinih kategorija opisnih obeležja između grupa poređene su  $\chi^2$  testom ili Fisher-ovim testom. Poređenje vrednosti numeričkih obeležja između eksperimentalne i kontrolne grupe vršeno je Studentovim t-testom ili Mann-Whitney U testom u slučajevima kada nije bio ispunjen uslov normalnosti rasporeda. Poređenje numeričkih vrednosti između 3 grupe ispitanica vršeno je jednostranom analizom varijanse (one-way ANOVA) i sledbenim Tukey post-hoc testom. Nivo verovatnoće od 5% ( $p<0,05$ ) je uzet kao granični nivo statističke značajnosti.

**REZULTATI:** Trudnice u kojih je nastupio prevremeni porođaj imale su statistički značajno češće opterećenu životnu i akušersku anamnezu. Osim abnormalne kolonizacije donjeg genitalnog trakta, statistički značajno češće u eksperimentalnoj grupi utvrđeno je prisustvo kliničkog horioamnionitisa i to često u slučajevima sa povišenim nivoom IL-6 u plodovoj vodi. U grupi prevremenih porođaja česta je udruženost kliničkog i histološkog horioamnionitisa. Statistički značajno češće se u eksperimentalnoj grupi sreću PPRM i povišen RI a. uterine. PPRM je statistički značajno češće prisutan u slučaju postojanja inflamatornih promena placente i plodovih ovoja (horioamnionitis). IUGR i povišen RI a. uterine statistički značajno češće se sreću u slučajevima gde se pri HP pregledu konstatuju

vaskularne lezije. U obe grupe najveći broj porođaja dovršen je vaginalnim putem, ali je perinatalni ishod u pogledu Ap skora statistički značajno lošiji u grupi prevremenih porođaja. Ap skor 0-7 statistički je značajno češći u grupi prevremenih porođaja sa povišenim nivoom IL-6 u plodovoj vodi. Osim neuromorbiditeta, ostali neonatalni morbiditet je statistički značajno češći kod neonatusa trudnica eksperimentalne grupe. Histopatološki nalaz koji ukazuje na inflamaciju i prisustvo vaskularnih lezija statistički je značajno češći u eksperimentalnoj grupi, posebno u slučajevima abnormalne kolonizacije genitalnog trakta. Perinatalni mortalitet je statistički značajno viši u eksperimentalnoj grupi. Ukupan perinatalni mortalitet eksperimentalne grupe je statistički značajno viši u slučajevima sa povišenim nivoom IL-6 u amnionskoj tečnosti.

**ZAKLJUČAK:** Prevremeni porođaj je veoma složen poremećaj sindromske prirode, a intrauterina inflamacija zauzima značajno mesto u njegovoj etiopatogenezi. Trudnice u kojih nastupa prevremeni porođaj često imaju opterećenu životnu i akušersku anamnezu u smislu postojanja manifestacija koje se mogu dovesti u vezu sa procesom inflamacije (neurednost menstrualnih ciklusa, infertilitet, prethodne pobačaje i prevremene porođaje, krvarenja u trudnoći, PIH i preeklampsiju). Porast nivoa IL-6 u plodovoj vodi često prati pretermijski porođaj i može biti senzitivn biohemijski marker intrauterine inflamacije i dobar prediktor prevremenog porođaja. U osnovi visokog neuro i ukupnog morbiditeta pretermijskih neonatusa mogao bi biti fetalni/neonatalni sindrom inflamatornog odgovora. Visok ukupan perinatalni mortalitet u slučajevima sa povišenim nivoom IL-6 u amnionskoj tečnosti kod prevremenih porođaja ukazuje na udruženost intraamnijalne infekcije/inflamacije i lošeg perinatalnog ishoda.

**Ključne reči:** trudnoća, inflamacija, citokini, prevremeni porođaj, intrauterina infekcija, intraamnijalna inflamacija, interleukin-6, fetalni inflamatorni odgovor

**Naučna oblast:** Medicina

**Uža naučna oblast:** Ginekologija sa akušerstvom, Perinatologija

**UDK broj** \_\_\_\_\_

## THE CLINICAL SIGNIFICANCE OF INTRA-AMNIOTIC INFLAMMATION IN PRETERM LABOR

### Summary

**OBJECTIVE:** The aim of this study was to determine the frequency, clinical characteristics and significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm labour.

**SUBJECTS AND METHODS:** The study was conducted as a prospective, randomized study. The patients were divided into 2 groups. The examined group consisted of patients with singleton pregnancies and a diagnosis of preterm labor (PTL). The control group consisted of patients with singleton pregnancies delivered at term. Comparison of numerical and descriptive characteristics of the respondents was conducted between the experimental and control group, as well as among members of the examined group compared to the presence of abnormal colonization of the lower genital tract, the level of IL -6 in the amniotic fluid and placenta and fetal membranes pathological findings. Amniotic fluid samples were taken through a transabdominal amniocentesis, centrifuged, and were frozen at  $-70^{\circ}\text{C}$ . The concentration of interleukin-6 was measured by a colorimetric high-sensitive ELISA test (R&D Systems) with a sensitivity of  $< 1\text{pg/ml}$ . Frequency of certain categories of descriptive characteristics between groups were compared by  $\chi^2$  test or Fisher 's test. Comparison of numerical values of characteristics between the examined and control group was performed by Student's t-test or Mann-Whitney U test when not fulfilled the requirement of normality schedule. Comparison of numerical values between the three groups of subjects performed a one-sided analysis of variance (one- way ANOVA) and Tukey post-hoc test. Probability level of 5 % (  $p < 0.05$  ) is taken as the limit level of statistical significance.

**RESULTS:** Pregnant women in whom preterm delivery had occurred, more frequently had burdened life history of disease and obstetric history. As well as the abnormal colonization of the lower genital tract is significantly more frequent finding in the examined group, it was also the presence of clinical chorioamnionitis, especially in cases with elevated amniotic fluid levels of IL-6. There is a frequent association of clinical and histological chorioamnionitis in the group of preterm labour. Preterm Premature Rupture of Membranes (PPROM) is significantly more frequent in the examined group as well as the elevated values of uterine artery RI. PPRM was significantly more often present in case of inflammatory changes in the placenta and fetal membranes (chorioamnionitis). IUGR and a high uterine artery RI are

more often associated with pathological findings of placental vascular lesions. The majority of deliveries were completed vaginally in both groups, but the perinatal outcome (Ap score) was significantly worse in the group with PTL. AP score of 0-7 was more frequent in the group of preterm deliveries with elevated levels of amniotic fluid IL-6. As well as the onset of neuromorbidity, the overall neonatal morbidity was also more common in examined group. The histopathological findings with the presence of inflammation and vascular lesions were significantly more frequent in the experimental group, especially in cases of abnormal genital tract colonization. Perinatal mortality was significantly higher in the experimental group. Total perinatal mortality of the experimental group was significantly higher in the case of elevated levels of IL- 6 in the amniotic fluid.

**CONCLUSION:** Preterm labor is a complex clinical syndrome, and intrauterine inflammation plays an important role in its etiopathogenesis. In cases of PTL, burdened life history is more frequent finding as well as the obstetric history of events that correlate with the process of inflammation (irregularity of menstrual cycles, infertility, previous miscarriages and premature births, bleeding in pregnancy, PIH and pre-eclampsia). Increased levels of IL-6 in the amniotic fluid are often accompanied with PTL and can be a sensitive biochemical marker of intrauterine inflammation and a good predictor of preterm delivery. Basically, fetal/neonatal inflammatory response syndrome can be considered as a crucial event in the high neuro and overall morbidity of preterm neonates. The high overall perinatal mortality in cases with elevated amniotic fluid IL-6 levels in preterm deliveries suggests an association of intra amniotic infection/inflammation and poor perinatal outcome.

**Keywords :** pregnancy, inflammation, cytokines, preterm delivery, intrauterine infection, intra-amniotic inflammation, interleukin-6, fetal inflammatory response

**Scientific field:** Medicine, Gynaecology and Obstetrics

**Narrow field:** Perinatology

**UDC number** \_\_\_\_\_



# SADRŽAJ

<b>I UVOD</b> .....	1
<b>1 INFLAMACIJA</b> .....	5
1.1 UZROCI INFLAMACIJE.....	5
1.2 KARDINALNI ZNACI UPALE.....	5
1.3 AKUTNI INFLAMATORNI PROCES.....	6
1.3.1 Eksudativna komponenta.....	6
1.3.1.1 Vaskularne promene.....	7
1.3.1.2 Medijatori plazme.....	7
1.3.2 Čelijska komponenta.....	8
1.3.2.1 Ekstravazacija leukocita.....	8
1.3.2.2 Čelijski medijatori.....	9
1.4 REZOLUCIJA INFLAMACIJE.....	9
1.5 SISTEMSKI EFEKTI.....	10
1.6 REZULTATI UPALE.....	12
<b>2 PRETERMINSKI POROĐAJ</b> .....	13
2.1 ETIOLOGIJA I FAKTORI RIZIKA.....	13
2.2 PATOFIZIOLOGIJA PREVREMENOG POROĐAJA.....	14
2.2.1 Mehanizam inicijacije porođaja.....	15
2.2.1.1 Porast uterusne kontraktilnosti.....	15
2.2.1.2 Sazrevanje cerviksa.....	16
2.2.1.3 Aktivacija decidue i fetalnih membrana.....	17
2.2.1.4 Uloga progesterona.....	17
2.2.1.5 Uloga prostaglandina.....	19
2.2.1.6 Mogući putevi signalizacije početka porođaja od strane fetusa.....	20
2.2.1.7 Porođaj kao inflamatorni proces.....	21
2.2.1.8 Uloga lacente.....	21
2.2.2 Mehanizam inicijacije prevremenog porođaja i PPRM-a.....	22
2.2.2.1 Prevremeni porođaj kao sindrom.....	22
2.2.2.2 Intrauterina infekcija i inflamacija.....	23
2.2.2.3 Uteroplacentna ishemija.....	24
2.2.2.4 Prerastegnutost uterusa.....	26
2.2.2.5 Abnormalna reakcija alografta.....	26
2.2.2.6 Alergijski indukovani prevremeni porođaj.....	26
2.2.2.7 Cervikalna insuficijencija.....	27
2.2.2.8 Progesteronska deficijencija kao mehanizam prevremenog porođaja.....	27
2.2.2.9 Specifični mehanizmi upleteni u prevremeni porođaj.....	27
2.2.2.10 Interakcija gena i uticaja sredine.....	28
<b>3 ULOGA CITOKINA I DRUGIH INFLAMATORNIH MEDIJATORA U PREVREMENOM POROĐAJU</b> .....	29
3.1 CITOKINI I TRUDNOĆA.....	29
3.1.1 Interleukin 1.....	30
3.1.2 Interleukin 2.....	31
3.1.3 Interleukin 3.....	32
3.1.4 Interleukin 4.....	32
3.1.5 Interleukin 5.....	32
3.1.6 Interleukin 6.....	33
3.1.7 Interleukin 7.....	34
3.1.8 Interleukin 8.....	34
3.1.9 Interleukin 9.....	34
3.1.10 Interleukin 10.....	35

3.1.11 Interleukin 11.....	35
3.1.12 Interleukin 12.....	36
3.1.13 Interleukin 13.....	36
3.1.14 Interleukin 14.....	36
3.1.15 Interleukin 15.....	36
3.1.16 Interleukin 16.....	37
3.1.17 Interleukin 17.....	37
3.1.18 Interleukin 18.....	37
3.1.19 Ostali citokini.....	38
3.1.20 Interferoni (IFN a, b, w i g).....	38
3.1.21 Faktor tumorske nekroze (TNF).....	38
3.1.22 Inhibitorni faktor leukemije (LIF).....	40
3.1.23 Faktor transformacije rasta (TGF).....	40
3.2 CITOKINI U INFLAMATORNOJ REAKCIJI.....	41
3.3 ULOGA CITOKINA U PREVREMENOM POROĐAJU.....	43
3.3.1 Faza inicijacije.....	43
3.3.2 Faza imunomodulacije.....	44
3.4 CITOKINI I NEONATALNA OBOLJENJA.....	45
3.4.1 Sindrom fetalnog inflamatornog odgovora.....	45
3.4.1.1 Fetalna neurotoksičnost.....	46
3.4.1.2 Drugi fetalni morbiditet.....	47
3.4.2 Neonatalni inflamatorni odgovor.....	47
3.4.2.1 Sepsa.....	47
3.4.2.2 Nekrotizujući enterokolitis (NEC).....	47
3.4.2.3 Hronična plućna bolest (CLD)/bronhopulmonarna displazija (BPD).....	48
3.4.2.4 Retinopatija zbog prematuriteta.....	49
3.4.3 Perinatalni inflamatorni odgovor, neonatalna oboljenja i neuromorbiditet.....	49
3.4.3.1 Vreme nastanka.....	49
3.4.3.2 Tip i prisustvo patogena.....	49
3.4.3.3 Antiinsultne strategije.....	49
3.4.3.4 Antenatalne strategije.....	50
<b>4 PREDIKCIJA PREVREMENOG POROĐAJA.....</b>	<b>51</b>
4.1 Cervikalna ultrasonografija u predikciji prevremenog porođaja.....	51
4.2 Fetalni fibronektin u vaginalnom sekretu i prevremeni porođaj.....	51
4.3 Bakterijska vaginoza i rizik prevremenog porođaja.....	52
4.4 Kućni monitoring uterušnih kontrakcija i rizik prevremenog porođaja.....	53
4.5 Kortikotropni rilizing hormon (CRH) i rizik prevremenog porođaja.....	53
4.6 Salivarni estriol u predikciji prevremenog porođaja.....	54
4.7 Stvaranje trombina i rizik prevremenog porođaja.....	54
<b>II CILJ ISTRAŽIVANJA.....</b>	<b>55</b>
<b>III SUBJEKTI I METODE ISTRAŽIVANJA.....</b>	<b>56</b>
<b>IV REZULTATI ISTRAŽIVANJA.....</b>	<b>58</b>
Tab. 1. Starost, paritet i zanimanje ispitanica eksperimentalne i kontrolne grupe.....	58
Tab. 2. Incidenca prevremenog rađanja u odnosu na nedelje gestacije.....	59
Tab. 3. Životna i akušerska anamneza ispitanica i prevremeni porođaj.....	59
Tab. 4. Bakteriurija kod ispitanica eksperimentalne i kontrolne grupe.....	59
Tab. 5. Bakteriurija i patološka genitalna flora u eksperimentalnoj grupi.....	60
Tab. 6. Parametri kliničkog horioamnionitisa u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi.....	60
Tab. 7. Parametri kliničkog horioamnionitisa i abnormalna kolonizacija genitalnog trakta u eksperimentalnoj grupi.....	61
Tab. 8. Parametri kliničkog horioamnionitisa i nivo IL-6 u amnionskoj tečnosti u eksp. grupi.....	61
Tab. 9. Parametri kliničkog horioamnionitisa i HP placente u eksperimentalnoj grupi.....	62
Tab. 10. Biohemijski parametri inflamacije u amnionskoj tečnosti kod trudnica eksp. i kont. grupe.....	62
Tab. 11. Učestalost PPRM-a, IUGR-a, ablacije posteljice i vrednost RI a. uterine u eksp. i kont. grupi.....	63
Tab. 12. Način porođaja i Ap skor u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi.....	63

Tab. 13. Ap skor i nivo IL-6 u eksperimentalnoj grupi.....	64
Tab. 14. Neonatalni inflamatorni odgovor i prisustvo abnormalne kolonizacije genitalnog trakta u eksp. grupi.....	64
Tab. 15. Neonatalni neuromorbiditet u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi.....	65
Tab. 16. Ukupan neonatalni morbiditet u ispitivanoj i kontrolnoj grupi.....	65
Tab. 17. Hemokultura neonatusa eksperimentalne i kontrolne grupe.....	66
Tab. 18. Histopatološki nalaz posteljice u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi.....	66
Tab. 19. HP placente i patološka genitalna flora u eksperimentalnoj grup.....	66
Tab. 20. Učestalost PPROM-a, IUGR-a, ablacije posteljice i vrednost RI a. uterine u odnosu na nalaz placente i plodovih ovoja u eksperimentalnoj grupi.....	67
Tab. 21. Perinatalni mortalitet u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi.....	67
Tab. 22. Perinatalni mortalitet u eksperimentalnoj grupi i nivo IL-6 u amnionskoj tečnosti.....	68
<b>V DISKUSIJA.....</b>	<b>69</b>
<b>VI ZAKLJUČAK.....</b>	<b>79</b>
<b>LITERATURA.....</b>	<b>81</b>
BIOGRAFIJA AUTORA	
IZJAVE AUTORA	

## SKRAĆENICE KORIŠĆENE U TEKSTU

ACTH - adrenokortikotropni hormon	ng - nedelje gestacije
BPD - bronhopulmonarna displazija	NOS - azotoksid-sintetaza
BPD - bronhopulmonarna displazija	PA - plazminogen aktivator
CLD - hronična plućna bolest	PAF - faktor aktivacije trombocita
COX - ciklooksigenaza	PG - prostaglandini
CP - cerebralna paraliza	PGDH - prostaglandin-dehidrogenaza
CRH - kortikotropni rilizing hormon	PGHS - prostaglandin-H-sintetaza
CRP - C reaktivni protein	PGHS - prostaglandin-sintetaza
CsFI - faktor inhibicije sinteze citokina	PG-S1 - proteoglikan biglican
ECM - ekstracelularni matriks	PG-S2 - proteoglikan dekorin
EGF - epidermalni faktor rasta	PP - prevremeni porođaj
ET - endotelin	PPROM - preterminsko prevremeno
FIRS- sistemski fetalni inflamatorni odgovor	prsnuće plodovih ovoja
HCG - humani horionski gonadotropin	PR - progesteronski receptor
<i>HLA-G</i> histocompatibility antigen G	PROM- prevremeno prsnuće plodovih ovoja
IFN - interferon	PTHrP - paratireoidnom hormonu srodni peptidi
IL - interleukin	PVL - periventrikularna leukomalacija
IUGR - intrauterini zastoj rasta	RDS - respiratorni distres sindrom
IVH - intraventrikularna hemoragija	ROP - retinopatija
Le - leukociti	SGA - small for gestational age
LIF - Leukemia inhibitory factor	TAT - trombin-antitrombin kompleks
LPS - bakterijski endotoksin	TGF - faktor transformacije rasta
MHC - major histocompatibility complex	TNF - faktor tumorske nekroze
MIP - makrofagni inflamatorni protein	VEGF - vaskularni endotelijalni faktor rasta
MMP - matriks-metalo-proteinaza	ZAM - zona alterirane morfo
NEC - nekrotizujući enterokolitis	
NF - nuklearni faktor	

# I

## UVOD

**P**retermijski porođaj je definisan kao porođaj posle 20. i pre navršene 37. nedelje gestacije, odnosno pre 259. dana trudnoće, računajući od prvog dana poslednje menstruacije, nezavisno od porođajne težine fetusa.<sup>1</sup> Uz kongenitalne malformacije jedan je od vodećih uzroka perinatalnog morbiditeta i mortaliteta širom sveta i obrnuto je proporcionalan gestacijskoj starosti i porođajnoj težini fetusa. Oko 85% neonatalne smrti koja se javlja u strukturno normalne dece pripisuje se prevremenom porođaju.

Izveštaji o učestalosti prevremenog rađanja razlikuju se između različitih rasa, etničkih grupa, podneblja, zemalja i institucija i kreću se od 5-15%. U našoj zemlji učestalost prevremenih porođaja kreće se između 6-10%. Uprkos naporima da se redukuje stopa prevremenih porođaja, incidenca istih je u porastu u poslednje dve decenije. Većoj učestalosti znatno doprinose jatrogeni faktori, a delom i programi asistiranih fertilizacija koji nose visoku učestalost plurifetacija u kojima su fetalni gubici visoki. Biohemijski i biofizički parametri (fetalni fibronektin, estriol, kortikotropni rilizing hormon,  $\beta$  HCG,  $\alpha$  fetoprotein, cervikometrija, tokometrija, digitalna palpacija cerviksa) koji se koriste u prevenciji, kao i raspoložive interventne metode (tokoliza, serklaž, antibiotska terapija), pokazali su se nedovoljno efikasnim kada je ovaj problem u pitanju.

S obzirom na multifaktorijalnost prevremenog porođaja Meis i sar. su 1998.god. izvršili podelu u dve široke kategorije: spontani i indikovani prevremeni porođaj. Oko 75% prevremenih porođaja pripada kategoriji spontanih koji glavnom nastaju nakon spontano započetih uterušnih kontrakcija ili preterminskog prevremenog prsnuća plodovih ovoja (PPROM-a). Sa druge strane, indikovani prevremeni porođaj predstavlja benefit za majku ili plod jer sledi nakon opstetričke odluke u slučajevima kao što su: preeklampsija, maternalna hipertenzija, placenta previja, abrupcija placente, dijabetes, IUGR.

Vodeći uzroci morbiditeta prematurusa su respiratorni distres sindrom, intraventrikularna hemoragija, bronhopulmonarna displazija, otvoren ductus arteriosus, nekrotizujući enterokolitis, sepsa, retinopatija, hiperbilirubinemija, nutricionistički (metabolički) problemi, hipotermija i druge komplikacije respiratornog, gastrointestinalnog, renalnog i nervnog sistema. Postoji opravdana zabrinutost i kada je u pitanju kasni morbiditet tj. dugoročne posledice prevremeno rođenih neonatusa, posebno onih niske i ekstremno niske porođajne težine. Oko 10% prevremeno rođene dece ostaje sa permanentno izraženim hendikepom u razvoju kao što su mentalna retardacija, cerebralna paraliza, vizuelni i slušni defekti, emocionalni poremećaji, otežana socijalna adaptacija i usporen intelektualni razvoj.

Danas se smatra da je preko 40% prevremenih porođaja posledica intrauterine infekcije.<sup>2,3</sup> Pretpostavlja se da većina slučajeva prevremenog rađanja usled infekcije nastaje zbog upalnog procesa posredovanog jakim upalnim odgovorom u gestacijskim tkivima. Najčešće se radi o abnormalnoj kolonizaciji donjeg genitalnog trakta mikroorganizmima kao što su *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Streptococcus β haemolyticus*, *Chlamydia trachomatis*, *Gardnerella vaginalis*.<sup>4,5</sup> Ovi mikroorganizmi ascendiraju do horiodecidualnog prostora i stimulišu inflamatornu reakciju placente, plodovih ovoja i decidue. Pretermijski porođaj je tada uzrokovan maternalnim i fetalnim odgovorom na tu inflamatornu reakciju koji dovodi do povećanja sekrecije prostaglandina.<sup>6,7,8,9,10,11</sup> Najčešći put intrauterine infekcije je ascendentni, mada to mogu biti i transplacentna infekcija, akcidentalno unošenje uzročnika tokom invazivnih procedura, kao i sistemska infekcija majke.<sup>12</sup> Prema nekim autorima ascendentna infekcija se odvija kroz 4 stadijuma.<sup>13</sup> Prvi stadijum podrazumeva promenu cervikovaginalne flore i prisustvo patogenih mikroorganizama. U drugom stadijumu mikroorganizmi naseljavaju deciduu gde uzrokuju inflamatorni odgovor. Nakon toga bivaju invadirani fetalni krvni sudovi (*choriovasculitis*) i membrane (*amnionitis*), što vodi ka intraamnijskoj infekciji (stadijum 3). Kada se nađu u amnijskoj šupljini, uzročnici kroz razna ulazna vrata mogu prodrati u fetus (stadijum 4).

Pretpostavka je da je intrauterina infekcija uglavnom hronična i asimptomatska (bez febrilnosti, abdominalnog bola, leukocitoze ili fetalne tahikardije) sve do početka porođaja ili rupture plodovih ovoja.<sup>14</sup>

Terminski porođaj je udružen sa umerenim porastom citokina i hemokina, dok je prevremeni porođaj komplikovan horioamnionitisom udružen sa njihovim dramatičnim porastom. Pretpostavlja se da je kod pacijenata sa prevremenim porođajem i intaktnim fetalnim membranama koncentracija prostaglandina, leukotriena i citokina u plodovoj vodi viša u slučajevima sa pozitivnom kulturom amnionske tečnosti. Međutim, ekspresija hemokina je takođe povišena u gestacijskim tkivima kod prevremenog porođaja bez evidentne infekcije.

Placenta i fetalne membrane su izvor velikog broja citokina, hemokina i njima sličnih faktora.<sup>15</sup> Reakcija domaćina na infekciju ogleda se u infiltraciji inflamatornim ćelijama (monociti/makrofagi) koje proizvode ove citokine, tj. u nastanku sindroma sistemskog inflamatornog odgovora.<sup>16</sup> Humana decidua u odgovoru na bakterijske produkte (LPS) proizvodi interleukin-1 (IL-1) i faktor tumorske nekroze (TNF $\alpha$ ).<sup>17</sup> Humani amnion i horion takođe imaju sposobnost da proizvode citokine u odgovoru na stimulaciju LPS-om.<sup>18</sup>

Mehanizam udruženosti intrauterine infekcije i porođaja ogleda se u infekcijom uslovljenom oslobađanju citokina. Citokini stimulišu produkciju prostaglandina koji pak indukuju miometralne kontrakcije, sazrevanje cerviksa i rupturu plodovih ovoja. IL-1 $\beta$  i TNF $\alpha$  stimulišu biosintezu prostaglandina u amnionu, horionu, decidui i miometralnim ćelijama preko porasta sinteze i aktivnosti ciklooksigenaze-2 (COX-2).<sup>19</sup> Citokini takođe povećavaju ekspresiju prostaglandin-H-sintetaze-2 (PGHS-2) i smanjuju aktivnost 15-hidroksi-prostaglandin dehidrogenaze (PGDH) iz fetalnih membrana koja je jedan od ključnih enzima u degradaciji prostaglandina. Citokini povećavaju ekspresiju i aktivnost matriks-metaloproteinaze (MMP). Koncentracija MMP-9 u horionu raste kod terminskog i pretermanskog porođaja. Aktivnost MMP-9 može biti odgovorna za razmekšanje cerviksa i pretermansku prevremenu rupturu plodovih ovoja.<sup>15,20</sup> Intrauterina infekcija je udružena sa višim nivoom MMP-9 u amnionskoj tečnosti.

Pokušaji prevencije prevremenog porođaja sa intrauterinom infekcijom generalno su bezuspešni. Da bi izbegli nepotrebnu upotrebu tokolitikata važno je definisati žene sa ovim sindromom. Dijagnoza intrauterine infekcije postavlja se kulturom amnionske tečnosti ili fetalne krvi. Međutim, potrebno je nekoliko dana da rezultat postane dostupan i klinički upotrebljiv. Brži test za predikciju prisustva intrauterine infekcije je određivanje broja

leukocita i koncentracije glukoze u plodovoj vodi.<sup>2</sup> Detekcija proinflamatornih citokina u amnionskoj tečnosti može se koristiti kao rapid test u predikciji prevremenog porođaja. Visoka koncentracija IL-6 i IL-8 u amnionskoj tečnosti udružena je sa mikrobijalnom invazijom, intraamnijskom infekcijom i promptnim porođajem.<sup>6,11</sup>

Nivo IL-6, IL-8 i TNF- $\beta$  u maternalnom serumu ne raste u prevremenom porođaju te ova određivanja nisu korisna u predikciji prevremenog porođaja.<sup>21</sup>

Intrauterina infekcija uzrokuje teške akutne i hronične posledice kao što su neonatalna sepsa, neurološka oštećenja, cerebralna paraliza i BPD.<sup>22,23</sup> Neonatalna sepsa kod PPROM-a verovatno nastaje češće in utero nego tokom porođaja. Incidenca neonatalne sepse u trudnoći sa pozitivnom kulturom amnionske tečnosti viša je nego u opštoj populaciji.

Veruje se da mikrobijalna invazija rezultira sistemskim fetalnim inflamatornim odgovorom (FIRS) koji može progredirati do cerebralne paralize, multiple disfunkcije organa, septičkog šoka (pa i smrti)<sup>12</sup> i koji uglavnom nastaje kod žena sa subkliničkom infekcijom. Povišen nivo citokina indukuje infiltraciju amniona inflamatornim ćelijama i aktivaciju matriks-metaloproteinaze u fetusu. Kao rezultat toga nastupa prevremeni porođaj. Visok nivo inflamatornih citokina u fetusu udružen je sa razvojem bronhopulmonarne displazije i periventrikularne leukomalacije.<sup>22,23</sup> Osim porasta nivoa fetalnog IL-6, i dalje ne postoji specifičan klinički ili laboratorijski znak sindroma fetalnog inflamatornog odgovora. Nivo inflamatornih citokina, pre svega IL-6 koji je glavni medijator snažnog odgovora na infekciju, uglavnom je povišen kod fetusa zahvaćenih ovim sindromom. Smatra se da je sindrom fetalnog inflamatornog odgovora (FIRS) ključan u nastanku oštećenja bele moždane mase fetusa, ali detaljan mehanizam je još uvek nejasan. Antiinflamatorni citokini mogu imati ulogu u prekidu ovog procesa (FIRS-a), ali se to još mora istraživati.



# 1. INFLAMACIJA

Upala (*inflammare*) je deo kompleksnog biološkog odgovora vaskularnog tkiva na štetne stimulanse<sup>24</sup> i predstavlja zaštitni pokušaj organizma da ukloni štetne podsticaje i pokrene proces ozdravljenja. Inflamacija nije sinonim za infekciju. Infekcija je uzrokovana egzogenim patogenima, a upala je jedan od odgovora organizma na različite štetne agense.

Inflamacija može biti klasifikovana kao akutna ili hronična. Akutna upala je inicijalni odgovor tela na štetne podsticaje. Produžene upale, poznate kao hronične, karakteriše istovremeno uništavanje i zarastanje tkiva.

## 1.1. UZROCI INFLAMACIJE

Infektivni	Neinfektivni
Bakterijska sepsa	Autoimuni poremećaji
Infekcija opekotina	Opekotine
Kandidijaza	Ciroza
Celulitis	Dehidracija
Holecistitis	Reakcija na lekove
Pneumonija	Električne povrede
Infekcija dijabetičnog stopala	Eritema multiforme
Erizipel	Hemoragični šok
Infektivni endokarditis	Hematološki malignitet
Grip	Intestinalna perforacija
Intraabdominalne infekcije (diverticulitis, apendicitis)	Akutna ishemija mezenterijuma
Gasna gangrena	Adrenalna insuficijencija
Meningitis	Neželjena dejstva lekova
Pseudomembranozni kolitis	Infarkt miokarda
Pijelonefritis	Pankreatitis
Septički artritis	Zloupotreba stimulanasa (kokain i amfetamini)
Toksični šok sindrom	Hirurške procedure
Infekcija urinarnog trakta	Toksična epidermalna nekroliza
	Transfuzijska reakcija
	Gornje gastrointestinalno krvarenje
	Vaskulitis

Slika 1. Infektivni i neinfektivni uzroci inflamacije

## 1.2. KARDINALNI ZNACI UPALE

Akutna upala je kratkoročan proces i obično se pojavljuje u roku od nekoliko minuta ili sati i prestaje po uklanjanju štetnog stimulanasa. Odlikuje je pet kardinalnih znakova:

- *Rubor* (crvenilo)
- *Calor* (povećana toplota)
- *Tumor* (otok)

- *Dolor* (bol)
- *Functio laesa* (gubitak funkcije)

Crvenilo i toplota nastaju zbog povećanog protoka krvi i povišene temperature u jezgru inflamacije. Oteklina je uzrokovana akumulacijom tečnosti, a bol oslobađanjem hemijskih supstanci koje stimuliraju nervne završetke. Gubitak funkcije ima više uzroka.

Ovih pet klasičnih znakova pojavljuju se kada je upala na površini tela, dok akutne upale unutrašnjih organa ne karakteriše ceo skup simptoma. Bol se javlja samo kada u upaljenoj oblasti postoje odgovarajući senzitivni nervni završeci. Na primer, akutno zapaljenje pluća (*pneumonia*) ne izaziva bol, osim ako ne uključuje i upalu parijetalne plućne maramice koja ima bolno osetljive nervne završetke.

### **1.3. AKUTNI INFLAMATORNI PROCES**

Proces akutne upale pokreću ćelije već prisutne u svim tkivima, pre svega makrofagi, dendritične ćelije, histioci, Kupffer-ove ćelije i mastociti. Delovanjem štetnog agensa ove se ćelije aktiviraju i oslobađaju medijatore inflamacije odgovorne za kliničke znake zapaljenja. Vazodilatacija i sledstveno povećanje protoka krvi izazivaju crvenilo i povećanje toplote na mestu upale. Povećana propustljivost krvnih sudova rezultira eksudacijom proteina plazme i tečnosti u tkiva. Neki od oslobođenih medijatora upale, kao što je bradikinin, povećavaju osetljivost na bol. Zbog povećanja propustljivosti krvnih sudova dolazi do migracije (ekstravazacije) leukocita, uglavnom neutrofila, van krvnih sudova u tkivo. Neutrofili se kreću duž hemotaksičnog gradijenta stvorenog od strane lokalne ćelije iz jezgra inflamacije.<sup>25</sup> Pored ćelijski proizvedenih posrednika upale, postoji i nekoliko biohemijskih kaskada procesa koje čine proteini plazme. Oni deluju paralelno u pokretanju i propagiranju inflamatornog odgovora. Pokreće ih bakterijska infekcija kao i nekroza koje aktiviraju sistem fibrinolize i koagulacije.<sup>25</sup>

#### **1.3.1. Eksudativna komponenta**

Eksudativna komponenta podrazumeva kretanje plazme koja sadrži važne proteine (fibrin i imunoglobuline) ka mestu upale. Ovo kretanje se postiže preko hemijski indukovane dilatacije i povećane propustljivosti krvnih sudova, što rezultira neto gubitkom u krvnoj plazmi. Povećana količina tečnosti u tkivu dovodi do formiranja edema.

### 1.3.1.1. Vaskularne promene

Akutnu inflamaciju karakterišu vaskularne promene (vazodilatacija, povećanje permeabilnosti i usporavanje protoka krvi) koje nastaju zbog delovanja brojnih inflamatornih medijatora. Vazodilatacija se prvo događa na nivou arteriola, napreduje na kapilarni nivo i zbog neto povećanja količine krvi uzrokuje crvenilo i toplotu na mestu upale. Povećana propustljivost krvnih sudova uslovljava kretanje plazme u tkiva sa posledičnim zastojem zbog povećanja koncentracije ćelija u krvi. Staza omogućava marginalno kretanje leukocita po endotelu krvnog suda što predstavlja uslov za njihovu ekstravazaciju.

### 1.3.1.2. Medijatori plazme

- Kinin sistem generiše proteine koji su u stanju da održe vazodilataciju i druge fizičke upalne efekte.
- Sistem koagulacije formira zaštitnu proteinsku mrežu preko mesta povrede.
- Sistem fibrinolize deluje suprotno koagulacijskom sistemu, čini protivtežu zgrušavanju i generiše nekoliko inflamatornih medijatora.

Ime	Produkcija	Opis
<a href="#">Bradykinin</a>	<a href="#">Kinin sistem</a>	Vazoaktivni protein koji indukuje vazodilataciju, povećava vaskularnu permeabilnost, izaziva kontrakcije glatkih mišića i indukuje bol.
<a href="#">C3</a>	<a href="#">Komplement sistem</a>	Cepa se na proizvode C3a i C3b. C3a stimuliše oslobađanje histamina iz mastocita čime izaziva vazodilataciju. C3b je u stanju da se veže za bakterijski zid i deluje kao opsonin koji beleži napadača kao cilj za fagocitozu.
<a href="#">C5a</a>	<a href="#">Komplement sistem</a>	Stimuliše oslobađanje histamina iz mast ćelija proizvodeći vazodilataciju. Takođe je u stanju da deluje kao hemoatraktant na mestu inflamacije.
<a href="#">Factor XII (Hageman Factor)</a>	<a href="#">Jetra</a>	Protein koji cirkuliše inaktivan. Kada se aktivira u stanju je da pokrene tri plazma sistema uključena u proces upale: kinin sistem, fibrinolitički i koagulacioni sistem.
<a href="#">Membrane attack complex</a>	<a href="#">Komplement sistem</a>	Sistem komplementa (C5b, C6, C7, C8, C9) koji formira kompleks koji je u stanju da se umetne u bakterijski zid, izazove lizu i sledstvenu ćelijsku smrt.
<a href="#">Plasmin</a>	<a href="#">Fibrinolitički sistem</a>	Probija fibrinski ugrušak, dopunjuje komplement C3 i aktivira Faktor XII.
<a href="#">Thrombin</a>	<a href="#">Koagulacioni sistem</a>	Pretvara rastvorljivi fibrinogen u nerastvorljivi fibrin koji formira krvni ugrušak. Vezujući se za ćeliju preko PAR1 receptora pokreće nekoliko drugih inflamatornih odgovora kao što su produkcija hemokina i azot oksida.

Slika 2. Inflamatorni medijatori plazme

### 1.3.2. Čelijska komponenta

Celularna komponenta uključuje leukocite koji u upaljena tkiva dospevaju putem ekstravazacije. Neki deluju kao fagociti, a drugi proizvode enzimske granule koje oštećuju patogene napadače. Leukociti oslobađaju medijatore inflamacije koji razvijaju i održavaju inflamatorni odgovor. Akutna upala je uglavnom posredovana granulocitima, dok je hronična upala posredovana mononuklearnim ćelijama (monociti i limfociti).

#### 1.3.2.1. Ekstravazacija leukocita

Proces prelaska leukocita iz krvi do tkiva kroz krvne sudove poznat je kao ekstravazacija i može se podeliti u više koraka:

- *Leukocitna lokalizacija i regrutovanje na mestu upale* uključuje marginaciju i prijanjanje na endotelne ćelije. Regrutovanje leukocita je receptorski posredovano. Selektini su familija transmembranskih glikoproteinskih receptora od ključnog značaja za međućelijske adhezije u početnim fazama zapaljenja. Oni su odgovorni za privremenu i labavu adheziju leukocita za površinu endotelnih ćelija i njihovo kretanje (eng. rolling) preko nje.<sup>26</sup> E-selektin se eksprimira na površini aktivirane endotelne ćelije posle stimulacije inflamatornim citokinima. Omogućava adheziju neutrofilnih leukocita i monocita na aktivirani endotel. P-selektin se normalno deponuje u Vajbel-Paladovim (Weibel-Palade) telašcima endotelnih ćelija i alfa granulama trombocita, a posle aktivacije u uslovima zapaljenja translocira se na plazma membranu endotelne ćelije i trombocita. U normalnim uslovima endotelne ćelije ne ekspimiraju selektine ni njihove ligande. Međutim, u početku inflamacije endotelne ćelije pod uticajem lokalnih hemijskih medijatora oslobođenih od ćelija na mestima zapaljenja, počinju da ekspimiraju P i/ili E-selektine, kao i ligande za L-selektin. Oni omogućavaju leukocitima da se privremeno vežu za endotelne ćelije sitnih krvnih sudova (kotrljanje leukocita) kroz čije zidove, između endotelnih ćelija dalje prolaze u tkiva na mestima gde se odigrava zapaljenjska reakcija. Kotrljanje leukocita (engl. rolling) traje dok se ne aktiviraju integrini koji će zaustaviti kotrljanje i omogućiti njihov izlazak iz krvnog suda u okolno tkivo.<sup>26</sup>

- *Migracija preko endotela*, poznata kao transmigracija, odvija se procesom dijapedeze. Hemokini gradijent stimuliše adherirane leukocite da se kreću između endotelnih ćelija i prođu kroz bazalnu membranu u tkivo.

- *Kretanje leukocita u tkivu* odvija se putem hemotakse. Hemoatraktanti uslovljavaju leukocite da se kreću duž gradijenta hemotakse ka jezgru zapaljenja.

### 1.3.2.2. Čelijski medijatori

Ime	Tip	Izvor	Opis
<a href="#">Lizozomne granule</a>	<a href="#">Enzimi</a>	Granulociti	Razgrađuju mnoge supstance od kojih neke mogu biti i plazma izvedeni proteini, što im omogućava da se ponašaju kao inflamatorni medijatori.
<a href="#">Histamin</a>	<a href="#">Vazoaktivni amin</a>	Mastociti, bazofili, trombociti	Čuva se u granulama i oslobađa u odgovoru na brojne stimulanse. Uzrokuje dilataciju arteriola i povećava vensku propustljivost..
<a href="#">IFN-<math>\gamma</math></a>	<a href="#">Citokin</a>	T-ćelije, NK ćelije	Ima antiviralna, imunoregulatorna i anti-tumorska svojstva. Važan je u održavanju hronične inflamacije.
<a href="#">IL-8</a>	<a href="#">Hemokin</a>	Primarno makrofagi	Aktivacija i hemoatrakcija neutrofila.
<a href="#">Leukotrien B4</a>	<a href="#">Eikosanoid</a>	Leukociti	Able to mediate leukocyte adhesion and activation, allowing them to bind to the endothelium and migrate across it. In neutrophils, it is also a potent chemoattractant, and is able to induce the formation of reactive oxygen species and the release of lysosome enzymes by these cells.
<a href="#">Azot oksid</a>	<a href="#">Rastvorljivi gas</a>	Makrofagi, endotelne ćelije, neki neuroni	Potentni vazodilator, relaksira glatke mišiće, smanjuje agregaciju trombocita, direktna antimikrobna aktivnost u visokim koncentracijama.
<a href="#">Prostaglandini</a>	<a href="#">Eikosanoidi</a>	Mastociti	Grupa lipida. Uzrokuju vazodilataciju, groznicu i temperaturu.
<a href="#">TNF-<math>\alpha</math></a> i <a href="#">IL-1</a>	<a href="#">Citokini</a>	Primarno makrofagi	Oba utiču na širok spektar ćelija i indukuju mnoge inflamatorne reakcije: proizvodnju citokina, hemotaksu, adheziju Le. Odgovorni su za sistemske efekte inflamacije.

Slika 3. Čelijski medijatori

## 1.4. REZOLUCIJA INFLAMACIJE

Inflamatorni odgovor mora biti aktivno ugašen kada više nije potrebno sprečavati oštećenje tkiva. Neuspeh rezultira hroničnom upalom i ćelijskom destrukcijom. Rezolucija inflamacije nastaje različitim mehanizmima u različitim tkivima. Mehanizmi koji služe da se prekrine upala su.<sup>25,27</sup>

- Kratak poluživot medijatora inflamacije in vivo.
- Proizvodnja i oslobađanje faktora transformacije rasta (TGFβ) iz makrofaga.<sup>28,29</sup>
  - Proizvodnja i oslobađanje IL-10.<sup>30</sup>
  - Proizvodnja anti-upalnih lipoksina.<sup>31</sup>
  - “Down” regulacija proinflamatornih molekula kao što su leukotrieni.
  - “Up” regulacija antiinflamatornih molekula kao što je antagonist interleukin-1 receptora ili receptora faktora tumorske nekroze (TNFR).
  - Apoptoza proinflamatornih ćelija.<sup>32</sup> Desenzitizacija receptora.
  - Produženo preživljavanje ćelija u regionima zapaljenja zbog njihove interakcije sa ekstracelularnim matriksom (ECM).<sup>33,34</sup>
  - “Down” regulacija receptorske aktivnosti visokim koncentracijama liganada.

Akutno zapaljenje obično smiruje koordinisan program rezolucije. Nakon ulaska u tkiva, granulociti promovišu prelazak prostaglandina i leukotriena (izvedenih iz arahidonske kiseline) u lipoksine koji iniciraju terminaciju procesa. Indukcija upošljavanja granulocita time prestaje i započinje njihova programirana smrt putem apoptoze. Ovi događaji se poklapaju sa biosintezom omega-3 polinezasićenih masnih kiselina, što značajno skraćuje period neutrofilne infiltracije, inicirajući apoptozu. Shodno tome, apoptotični neutrofilni podležu fagocitozi od strane makrofaga, što dovodi do oslobađanja antiupalnih i reparativnih citokina, kao što je TGFβ1. Antiupalni program završava odlaskom makrofaga kroz limfatike.<sup>36</sup>

## 1.5. SISTEMSKI EFEKTI

Infekcija organizma može preći granice neposrednog tkiva putem krvotoka ili limfnog sistema i pri tom se proširiti na druge delove tela. Ako uzročnik nije zadržan akcijom akutnog zapaljenja, on može pristupiti obližnjem limfnom sistemu putem limfnih sudova. Patogen putem limfne drenaže može ući u cirkulatorni sistem kada se postavlja dijagnoza sistemskog inflamatornog odgovora. Vazodilatacija i organska disfunkcija su ozbiljni problemi rasprostranjene infekcije koja može dovesti do septičkog šoka i smrti.

Upala često utiče na broj leukocita prisutnih u telu. Serumska leukocitoza se često može videti u toku upale izazvane infekcijom, gde dolazi do velikog povećanja leukocita u

krvi, a naročito nezrelih ćelija. Broj leukocita se obično poveća na između 15.000 - 20.000, ali u ekstremnim slučajevima i do 100.000 ćelija po mikrolitru.<sup>25</sup>

Sistemska inflamacija takođe dovodi do povećanja nivoa proteina akutne faze. Kod akutnih upala ovi proteini se mogu pokazati korisnim, ali kod hroničnih zapaljenja mogu da doprinesu amiloidozi.<sup>25</sup>

Koncept sistemske inflamacije razvijen je otkrivanjem citokina. Iako su procesi koji su uključeni u tkivnu upalu identični, sistemska inflamacija nije ograničena samo na određena tkiva, već uključuje endotel i druge sisteme organa. Npr. visok nivo nekih markera upale kao što su IL-6, IL-8, TNF $\alpha$  povezan je sa gojaznošću.<sup>37,38</sup> Tokom kliničkih studija uočen je pad nivoa upalnih molekula, a porast nivoa anti-inflamatornih molekula i to u roku od četiri nedelje nakon što su pacijenti započeli nisko-kalorijske dijeta.<sup>39</sup> Udruženost sistemske inflamacije sa insulinskom rezistencijom i aterosklerozom predstavlja predmet intenzivnih istraživanja.

Inflamatorni poremećaji se nalaze u osnovi širokog dijapazona ljudskih bolesti:<sup>25</sup>

- Akne
- Astma
- Hipersensitivnost
- Autoimune bolesti
- Hronični prostatitis
- Glomerulonefritis
- Inflamatorna crevna bolest
- Reumatoidni artritis
- Odbacivanje transplantata
- Vaskulitis
- Rak
- Ateroskleroza
- Ishemijska bolest srca

Alergijske reakcije, zvanično poznate kao tip 1 preosetljivosti, rezultat su neprikladnog imunog odgovora aktiviranog upalom. Uobičajen primer je polenska groznica, koja je uzrokovana preosetljivim odgovorom mastocita kože na alergene. Preosetljivi mastociti odgovaraju degranulacijom oslobađajući vazoaktivne hemijske supstance kao što je histamin. Ove hemijske supstance propagiraju prekomerni inflamatorni odgovor<sup>25</sup> koji može preći u sistemski odgovor poznat kao anafilaksa.

Inflamatorne miopatije su uzrokovane neprimerenim napadom imunog sistema na komponente mišića, što dovodi do znakova njihove upale. One mogu nastati u kombinaciji sa drugim imunološkim poremećajima kao što su sistemska skleroza, dermatomiozitis, polimiozitis.<sup>25</sup>

Zbog centralne uloge leukocita u razvoju i širenju upale, defekti u leukocitnoj funkciji dovode do smanjenja kapaciteta za odbranu od zapaljenja i do povećanja osetljivosti na infekciju.<sup>25</sup> Disfunkcionalni leukocit ne može da bude u stanju da se pravilno vezuje za krvni sud zbog mutacije površinskog receptora, svari bakterije (Chediak-Higashi sindrom), ili proizvodi mikrobicide (hronična granulomatozna bolest).

Upala čini i mikrokruženje tumora, doprinoseći njegovoj proliferaciji, opstanku i migraciji. Čelije raka koriste selektine, hemokine i njihove receptore za invaziju, migraciju i metastaziranje.

## 1.6. REZULTATI UPALE

Ishod inflamacije određuju naročite okolnosti u tkivima u kojima je došlo do povrede kao i štetni agens koji uzrokuje inflamaciju. Mogući ishodi upale su.<sup>25</sup>

- *Rezolucija.* Kompletna obnova upaljenog tkiva i vraćanje u normalno stanje. Inflamatorne mere kao što su vazodilatacija, produkcija medijatora i leukocitna infiltracija prestaju, a oštećene parenhimatozne ćelije se regenerišu. Ovo je obično rezultat u situacijama ograničenih ili kratkotrajnih upala.

- *Fibroza.* Ukoliko dođe do velikog oštećenja tkiva nemoguća je potpuna regeneracija. U oblastima oštećenja formira se ožiljak sastavljen prvenstveno od kolagena, tako da može doći do funkcionalnih oštećenja.

- *Stvaranje abscesa.* Formiranje šupljine koja sadrži gnoj.

- *Hronične upale.* Ako se nastavi dejstvo štetnog agensa, uslediće hronična upala. Ovaj proces traje nekoliko dana, meseci ili čak godina i može dovesti do stvaranja hroničnih lezija. Hroničnu inflamaciju karakteriše dominacija makrofaga u povređenim tkivima. Ove ćelije su moćni odbrambeni agensi tela, ali toksini koje oslobađaju štetni su po sopstvena tkiva kao i invadirajući agensi. Shodno tome, hroničnu upalu skoro uvek prate tkivna razaranja.



## 2. PRETERMINSKI POROĐAJ

### 2.1. ETIOLOGIJA I FAKTORI RIZIKA

**E**tologija prevremenog porođaja je multifaktorijalna i obuhvata razne egzogene i endogene faktore i socijalno-ekonomske uticaje. U pitanju je čitava serija fetomaternalnih sindroma i stanja. U svakom slučaju *primum movens* prevremenog završavanja trudnoće je ekscesivna anahrona uterusna aktivnost, bez obzira na faktore koji učestvuju u njenom izazivanju, a što je u dijagnozi, terapiji i prevenciji ove pojave od posebnog značaja i manifestuje se nemogućnošću kauzalnog tretmana.

Etiologija prevremenog porođaja		
<p><b>I Maternalni faktori</b></p> <p><i>a) Opšti</i></p> <p>Rasa, starost Telesna težina i visina Nastupanje menarhe Menstrualni ciklus Hormonski poremećaji Primena kontracepcije Infertilitet u anamnezi Raniji namerni pobačaji Raniji spontani pobačaji Ektopična trudnoća Vaginalni pregledi Paritet Interval između trudnoća Raniji prevremeni porođaji Ranije perinatalne smrti Rađanje dece male telesne težine Ranije fetalne malformacije Kardiovaskularne bolesti Hipertenzija izazvana trudnoćom Hepatitis i i holestaza trudnoće Bolesti bubrega Urinarna infekcija Infektivne bolesti Asthma bronhiale Hirurška oboljenja u trudnoći Maligna oboljenja Febrilna stanja majke Akutne i hronične intoksikacije Anemije</p>	<p>Diabetes melitus EPH gestoze Druga oboljenja Imunološki faktori Psihološki faktori</p> <p><i>b) Lokalni</i></p> <p>Malformacije uterusa Istmikocervikalna insuficijencija Polihidramnion Iritabilan uterus Retencija intrauterinog uloška Genitalna infekcija Tumori uterusa i adneksa Ashermanov sindrom Krvarenje u ranijoj i aktuelnoj trudnoći Cervikalna konizacija</p> <p><b>II Paternalni faktori</b></p> <p>Coitus Profesionalna oštećenja</p> <p><b>III Fetalni faktori</b></p> <p>Multiple trudnoće Malformacije fetusa Fetalne infekcije Retardacija rasta ploda Fetalna smrt Položaj i prezentacija ploda</p>	<p><b>IV Placentni faktori</b></p> <p>Abrupcija placente Placenta previa Placenta insuficijencija</p> <p><b>V Horioamnijalni faktori</b></p> <p>Prevremeno prskanje plodovih ovoja Chorioamnionitis</p> <p><b>VI Socio-ekonomski faktori</b></p> <p>Bračno stanje Socijalni status Nutricioni faktori Neželjena trudnoća Prosvećenost Zanimanje Zaposlenost Stres Lična higijena Pušenje Alkoholizam</p> <p><b>VII Traumatizam</b></p> <p><b>VIII Nivo zdravstvene zaštite</b></p> <p><b>IX Genetski faktori</b></p> <p><b>X Jatrogeni činioci</b></p> <p><b>XI Nepoznati uzroci (idiopatski)</b></p>

Slika4. Etiologija prevremenog porođaja

## 2.2. PATOFIZIOLOGIJA PREVREMENOG POROĐAJA

Porodaj je čin rađanja, ali i kompleksan proces koji uključuje anatomsku, fiziološku, biohemijsku i imunološku zbivanja u maternalnom, placentnom i fetalnom kompartmanu. Mehanizmi odgovorni za porodaj liče na one koji su uključeni u proces implantacije, dok zajedno predstavljaju karike brižljivo regulisanog inflamatornog procesa.

Pitanje inicijacije porođajnih kontrakcija kod prevremenog porođaja, kao i kod porođaja u terminu, nije još uvek objašnjeno na odgovarajući način. U osnovi njihovog nastanka je poremećaj ravnoteže faktora koji inhibiraju aktivnost uterusa i faktora koji deluju stimulatивно. Fundamentalna pitanja o fiziologiji i patologiji porođaja, procesu koji igra ključnu ulogu u održanju naše vrste, još uvek, na početku 21. veka, ostaju bez odgovora.

U kliničkom smislu porodaj predstavlja stanje u kome raste frekvenca i intenzitet uterušnih kontrakcija, što vodi progresivnom brisanju grlića, dilataciji i rađanju. Međutim, porodaj podrazumeva i promene koje nastaju u fazi njegove pripreme, za vreme, kao i nakon samog akta rađanja. Porodaj kao proces traje nedeljama, dok porodaj kao akt traje svega nekoliko sati.

Integrisan pogled na povezanost procesa implantacije, trudnoće i porođaja predložio je Paul MacDonald<sup>40</sup> koji ove odnose razvrstava u 4 stadijuma.

**Faza 0** karakteriše mirovanje miometrijuma, cervikalna nezrelost i intaktne fetalne membrane. Ključna odlika ove faze trudnoće je obuzdana sklonost miometrijuma da se kontrahuje, tako da su uterušne glatke mišićne ćelije refraktarne na prirodne stimulanse kao što je oksitocin. MacDonald smatra da ovo fiziološko stanje obuhvata 95% trajanja trudnoće.

**Faza 1** poznata je kao „priprema za porodaj“ i karakteriše je razvoj miometralnog odgovora na faktore koji stimulišu kontraktilnost (uterotonici). Prelazak faze 0 u fazu 1 uglavnom se odvija subklinički. Do danas ne postoji test koji bi sa sigurnošću identifikovao ovaj hipotetički prelaz faze 0 u fazu 1. Tradicionalno mišljenje je da je priroda ovog prelaska progresivna, ali klinička i eksperimentalna istraživanja pokazuju da ovaj prelaz može imati reverzibilan, kao i ireverzibilan tok. Ireverzibilan tok podrazumeva da je prelaz faze 0 u fazu 1 praćen početkom faze 2. Na primer, neki maternalni insulti, kao što je pijelonefritis, mogu dovesti do povećanja kontraktilnosti uterusa i indukovati promene cerviksa, dok rani tretman pijelonefritisa može prevenirati prevremeni porodaj.<sup>41</sup>

**Faza 2** korespondira sa početkom porođaja i klinički se karakteriše dramatičnim porastom intenziteta i frekvence uterušnih kontrakcija, progresivnim skraćivanjem cerviksa, dilatacijom i rupturom fetalnih membrana. Termin „početak porođaja“ specifično označava

prelaz iz faze 1 u fazu 2. Posmatrano sa kliničkog stanovišta, neke promene u fazi 2 mogu se objektivno prikazati partogramom koji iskazuje odnos između cervikalne dilatacije i pozicije prednjačućeg dela u funkciji vremena. Kraj druge faze nastupa sa rađanjem konceptusa.

**Faza 3** se odnosi na zbivanja koja nastaju nakon rađanja i imaju za cilj oporavak majke, njen doprinos preživljavanju neonatusa (dojenje), kao i vraćanje u pregravidno stanje.

Pretpostavlja se da postoji set različitih biohemijskih medijatora uključenih u ove 4 faze trudnoće i porođaja.<sup>42</sup> U nultoj fazi deluju inhibitori uterusne kontraktilnosti kao što su progesteron, prostaciklin, relaksin i PTHrP (paratireoidnom hormonu srodni peptidi).<sup>42</sup> U fazi 1 fetalna hipotalamo-pituitarno-adrenalna osovina povećava lučenje kortizola, što ultimativno vodi „up“ regulaciji grupe gena koji šifruju koneksin-43 (glavni protein miometralnih „gap junctions“-a) i oksitocinske receptore.<sup>42</sup> Faza 2 označava stimulaciju „pripremljenog“ uterusa uterotonicima kao što su prostaglandini i oksitocin<sup>42</sup> koji učestvuju i u uterusnoj kontraktilnosti nakon rađanja placente, lučenju mleka i stvaranju maternalno-fetalne sponje.

U širem smislu porođaj može početi zbog: 1) uklanjanja inhibitornog delovanja faktora koji održavaju stanje nezrelosti cerviksa i mirovanja uterusa tokom najvećeg dela gestacije, 2) delovanja stimulatornih faktora na iste ciljne organe, 3) kombinacije ovih delovanja.

### **2.2.1. Mehanizam inicijacije porođaja**

U trudnoći i porođaju nastaju brojna anatomska, biohemijska, fiziološka i klinička zbivanja u organizmu majke i/ili fetusa i to kako kod terminskog, tako i kod pretermanskog porođaja. Uterinu komponentu ovih zbivanja čini porast uterusne kontraktilnosti, sazrevanje cerviksa (brisanje i dilatacija) i aktivacija decidualno-fetalnih membrana.

Sistemske procesi (endokrinološki, metabolički), kao što je porast plazmatskog nivoa CRH i kortizola, takođe predstavljaju deo mehanizma kako terminskog, tako i pretermanskog porođaja.<sup>43,44,45</sup>

#### **2.2.1.1. Porast uterusne kontraktilnosti**

Iako miometralna aktivnost postoji i tokom trudnoće, porođaj karakterišu dramatične promene uterusne kontraktilnosti koje evoluiraju od kontraktura (grčenja) ka kontrakcijama. Kontraktura se definišu kao periodi miometralne aktivnosti koji traju nekoliko minuta i koji su udruženi sa umerenim porastom intrauterinog pritiska i fragmentiranim izlivima električne aktivnosti na elektromiogramu.<sup>46</sup> Kontrakcije su periodi miometralne aktivnosti kratkog

trajanja, udruženi sa dramatičnim porastom intrauterinog pritiska i elektromiografske aktivnosti.

Prelaz kontraktura u kontrakcije nastaje tokom normalnog porođaja ili može biti indukovan patološkim zbivanjima kao što je, na primer, infekcija.<sup>47</sup> Ovaj prelaz se događa noću, te porođaju prethodi progresivni noćni porast uterusne aktivnosti u smislu pojave kontrakcija. Cirkadijalna priroda ovih događaja sugeriše da je uterusna aktivnost pod neurološkom kontrolom. Plazma koncentracije oksitocina prate cirkadijalni ritam uterusne kontraktibilnosti, što upućuje na to da je oksitocin možda medijator ovog cirkadijalnog ritma.<sup>48,49</sup> Oksitocin se stvara u humanoj decidui i paraventrikularnom jedru hipotalamusa, dok se oksitocinski receptori nalaze u miometralnim ćelijama i decidui.<sup>50,51</sup> Ovaj hormon stoga ima i endokrinu i parakrinu ulogu u kontroli rađanja.<sup>52,53,54</sup>

Porođaj karakteriše efikasno stvaranje i koordinacija mehaničkih sila miometrijuma, što vodi ekspulziji konceptusa. Porast međućelijskih komunikacija može biti odgovoran za efikasnost miometralnih kontrakcija tokom porođaja. "Gap junctions" nastaju u miometrijumu neposredno pre porođaja i nestaju kratko nakon porođaja.<sup>55</sup> Stvaranje ovih veza i ekspresija "gap junction" proteina (koneksina 43) u miometrijumu identična je kod terminskih i pretermijskih porođaja.<sup>56</sup>

### **2.2.1.2. Sazrevanje cerviksa**

Tradicionalno je mišljenje da sposobnost cerviksa tokom trudnoće da zadrži konceptus predstavlja u stvari mehanizam delovanja mišićnog sfinktera.<sup>57,58</sup> Normalna funkcija cerviksa tokom trudnoće zavisi od regulacije njegovog ekstracelularnog matriksa. Glavne makromolekularne komponente ekstracelularnog matriksa su kolagen, proteoglikani, elastin i razni glikoproteini kao što je fibronektin.

Kolagen je najvažnija komponenta ekstracelularnog matriksa i determiniše snagu istezanja fibroznog vezivnog tkiva.<sup>59</sup> Promene cervikalnih karakteristika tokom trudnoće pripisuju se modifikacijama u sadržaju kolagena. Biohemijska zbivanja koja uslovljavaju sazrevanje cerviksa su: 1) smanjenje ukupnog sadržaja kolagena, 2) porast rastvorljivosti kolagena i 3) porast kolagenolitičke aktivnosti.

Proteoglikani takođe učestvuju u cervikalnoj fiziologiji. Proteoglikan dekorin (PG-S2) ima visok afinitet za kolagen i može pokriti površinu kolagenih fibrila, stabilizovati ih i stvoriti formaciju debljih snopova kolagenih vlakana. Suprotno ovome, PG-S1 (biglycan) nema afinitet za kolagen, te može destabilizovati kolagena vlakna. Dominantan proteoglikan u negravidnom stanju je PG-S2, a u terminu porođaja PG-S1.<sup>60</sup>

Sadržaj ekstracelularnog matriksa u cerviksu je veoma visok, te se mehaničke mogućnosti cerviksa rapidno mogu menjati. Promene komponenti ekstracelularnog matriksa u toku sazrevanja cerviksa mogu se uporediti sa inflamatornim odgovorom.<sup>61</sup> Zaista, tokom sazrevanja cerviksa dolazi do navale inflamatornih ćelija (makrofaga, neutrofila, mastocita, eozinofila) u cervikalnu stromu. Pretpostavlja se da ove ćelije proizvode citokine (interleukin-8) i druge medijatore kao što su prostaglandini (PG) koji zajedno utiču na metabolizam ekstracelularnog matriksa.<sup>62,63</sup>

Lanac događaja koji vode fiziološkom sazrevanju cerviksa još uvek nije tačno definisan, ali je utvrđena uloga seksualnih steroida. Estradiol indukuje sazrevanje cerviksa i stimuliše degradaciju kolagena in vitro. Progesteron blokira estrogen-indukovanu kolagenolizu in vitro i smanjuje produkciju IL-8.<sup>64</sup> Davanje antagonista progesteronskih receptora indukuje sazrevanje cerviksa u prvom trimestru trudnoće.<sup>65</sup> Mehanizam delovanja PGE<sub>2</sub> ogleda se u stimulaciji kolagenolitičke aktivnosti i sintezi PG-S1 u ECM cerviksa. Sledeći medijator koji učestvuje u mehanizmu sazrevanja cerviksa je azot-oksidi (NO) koji se nagomilava u stanju inflamacije i u visokim koncentracijama<sup>66</sup> indukuje sazrevanje cerviksa.<sup>67,68,69</sup>

Cervikalne promene koje prethode početku porođaja su postepene i odvijaju se tokom nekoliko nedelja. Smatra se da je kratak cerviks faktor rizika za prevremeni porođaj,<sup>70,71,72</sup> ali kliničko iskustvo pokazuje da mnoge žene sa kratkim cerviksom ostaju trudne još dugo vremena i porode se u terminu. Cervikalne promene su reverzibilne. Dexametason indukuje sazrevanje grlića i povećava kontraktilnost uterusa, a ovi efekti se mogu poništiti visokim dozama progesterona.

#### ***2.2.1.3. Aktivacija decidue i fetalnih membrana***

Ovaj pojam predstavlja kompleksan set anatomskih i biohemijskih zbivanja koji rezultuju separacijom donjeg pola plodovih ovoja od decidue donjeg uterinog segmenta i spontanom rupom membrana. Prevremena aktivacija ovog mehanizma vodi PPROM-u.

#### ***2.2.1.4. Uloga progesterona***

Estrogen i progesteron igraju glavnu ulogu u endokrinologiji i parakrinologiji trudnoće.<sup>73</sup> Progesteron održava miometrijum u stanju mirovanja, vrši "down" regulaciju "gap junction"-a i inhibira sazrevanje cerviksa.<sup>74</sup> Estrogen povećava ekscitabilnost i kontraktilnost miometrijuma i indukuje sazrevanje cerviksa.<sup>74</sup> Promene serumskih koncentracija seksualnih steroida pre početka porođaja razlikuju se kod različitih vrsta.<sup>75</sup> Kod mnogih vrsta dolazi do

pada maternalne serumske koncentracije progesterona pre početka porođaja, a mehanizam ovog pada zavisi od glavnog izvora progesterona (placenta ili CL).<sup>75</sup>

Luteoliza je ključna komponenta mehanizma početka porođaja kod zečeva, miševa i pacova. Kod ovaca porast fetalnog plazma kortizola indukuje placentnu produkciju 17  $\alpha$ -hidroksilaze. Ona vrši konverziju progesterona u androstenedion što dovodi do smanjenja progesterona. Androstenedion se akcijom aromataza transformiše u estrogen,<sup>75</sup> pa porođaju prethodi osim pada nivoa progesterona i porast koncentracije estrogena.

Kod primata (uključujući humanu vrstu) nema vidljivih promena maternalne serumske koncentracije progesterona. Humanoj placenti nedostaje 17 $\alpha$ -hidroksilaza, te ne može da sintetiše androstenedion i estrogen. Zbog toga je progesteron finalni proizvod humane placente. Glavni prekursori sinteze estrogena u humanoj placenti su dehidroepiandrosteron-sulfat (DHEA-S) iz fetalne i maternalne adrenalne žlezde (za estradiol i estron), kao i 16-hidroksi-dehidroepiandrosteron-sulfat (16-OH-DHEA-S) iz fetalne jetre (za estriol).<sup>73</sup>

U ljudskoj populaciji ne postoji smanjenje serumskog progesterona. Ovaj hormon se još uvek smatra važnim za održavanje trudnoće jer inhibicija njegovog delovanja davanjem antiprogestina Mifepristona<sup>76</sup> može indukovati pobačaj ili porođaj.<sup>73</sup> Postoji nekoliko pretpostavki kojima se objašnjava smanjenje delovanja progesterona bez pada njegovog serumskog nivoa: 1) vezivanje progesterona za proteine visokog afiniteta čime se redukuju funkcionalno aktivne forme,<sup>77</sup> 2) porast koncentracije kortizola u kasnoj trudnoći konkuriše progesteronu pri vezivanju za glukokortikoidne receptore što dovodi do funkcionalnog pada progesterona,<sup>78</sup> 3) konverzija progesterona u inaktivni oblik unutar "target" ćelije pre interakcije sa svojim receptorom. Humani amnion i horion mogu da konvertuju progesteron u inaktivni 20- $\alpha$ -dihidroksiprogesteron.<sup>79,80</sup> Smatra se da nivo ovog metabolita raste sa napredovanjem gestacije i u vreme porođaja.<sup>80</sup> Nijedna od ovih hipoteza još uvek nije dokazana,<sup>81</sup> te se istraživanja usmeravaju ka modulaciji ekspresije estrogenih i progesteronskih receptora.

Nivo progesteronskih receptora (PR) niži je kod pacijenata u porođaju nego u ranijoj gestaciji ili u terminu pre početka porođaja, što ukazuje na to da bi funkcionalno smanjenje progesterona moglo biti posledica smanjene ekspresije PR. Čak je nivo PR kod pacijenata koji nisu u porođaju u terminu niži nego kod pretermnske trudnoće, ukazujući da je pretermnska trudnoća otpornija na pad nivoa progesterona nego što je to trudnoća u terminu.

Suprotno ovome, u svim prethodnim situacijama ne postoji razlika u koncentraciji estrogenih receptora<sup>82</sup> To upućuje na koncept da funkcionalno smanjenje progesterona kako u

terminskoj, tako i u preterminskoj trudnoći, nastaje zbog redukcije PR u miometriju, odnosno zbog promena u ekspresiji različitih podtipova estrogenih i progesteronskih receptora, što može predstavljati krucijalan momenat u kontroli trajanja trudnoće.<sup>83</sup>

Alternativni mehanizam koji objašnjava funkcionalni pad progesterona je aktivacija nuklearnog faktora (NF)-kappa B u amnionu (transkripcioni faktor u citoplazmi) koji vrši represiju funkcije PR.<sup>84,85</sup> NF-kappa B aktiviraju IL-1b i drugi citokini. Aktivacija NF-kappa B dovodi do povećanja ekspresije COX-2 mRNA i sinteze prostaglandina.<sup>85</sup> U amnionskim ćelijama pre porođaja, kada je nivo NF-kappa B nizak, visoke koncentracije progesterona vrše represiju NF-kappa B zavisne transkripcije, dok stimulacija IL-1b povećava NF-kappa B aktivnost i suprimira aktivnost progesterona.

U svakom slučaju, signal koji dovodi do funkcionalnih hormonskih promena pred početak porođaja ostaje da bude determinisan.

#### **2.2.1.5. Uloga prostaglandina**

Prostaglandini se smatraju ključnim medijatorima početka porođaja<sup>86</sup> jer mogu indukovati kontrakcije miometrija,<sup>87,88</sup> promene ekstracelularnog matriksa sazrevanje cerviksa<sup>89</sup>, kao i decidualno-membransku aktivaciju.<sup>90</sup>

Uloga prostaglandina zasniva se na poznatim činjenicama: 1) administracija prostaglandina može uzrokovati terminaciju trudnoće (pobačaj ili porođaj),<sup>91</sup> 2) tretman indometacinom ili aspirinom može odložiti spontani početak porođaja kod životinja,<sup>92</sup> 3) koncentracija prostaglandina u plazmi i amnionskoj tečnosti raste tokom porođaja,<sup>93</sup> 4) intraamnijska injekcija arahidonske kiseline (prekursora prostaglandina) indukuje pobačaj i 5) koncentracija prostaglandina u amnionskoj tečnosti raste pre početka spontanog porođaja.<sup>94</sup>

Prostaglandine proizvode amnion,<sup>95</sup> horion,<sup>96</sup> decidua,<sup>97</sup> miometrijum<sup>98</sup> i placenta.<sup>96</sup> Mada postoji mnogo stimulatora sinteze prostaglandina, precizan signal odgovoran za njihov porast tokom porođaja još uvek nije determinisan. Kandidati mogu biti citokini (IL-1, TNF- $\alpha$ ),<sup>99</sup> faktori rasta (EGF),<sup>100</sup> kortizol<sup>101</sup> i drugi.

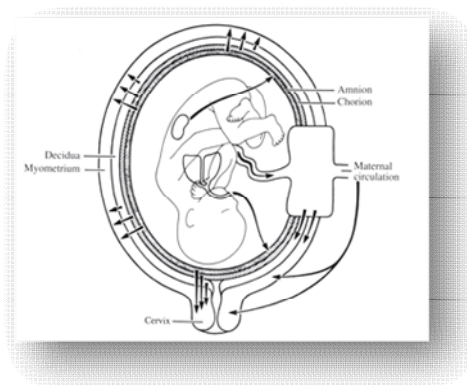
Prostaglandin-sintetaza (PGHS), takođe poznata kao ciklooksigenaza, je enzim odgovoran za inicijalni korak u produkciji prostaglandina. PGHS ima dva izoenzima: PGHS-1 i PGHS-2. Postoji topografska varijacija u distribuciji PGHS-2 tokom porođaja. Ekspresija PGHS-2 je viša u donjem uterinom segmentu nego u fundusnom delu uterusu. Suprotno, ekspresija 15-OH-prostaglandin-dehidrogenaze (PGDH), enzima odgovornog za degradaciju

prostaglandina, redukovana je u donjem uterinom segmentu u poređenju sa ekspresijom u fundusu.

Prostanoidni receptori su klasifikovani na osnovu odgovora na različite agoniste i antagonist (IP, TP, DP, EP i FP).<sup>102</sup> EP receptori su podeljeni na četiri subtipa, od kojih dva stimulišu kontrakcijski odgovor (EP<sub>1</sub> i EP<sub>3</sub>), a dva uzrokuju relaksaciju (EP<sub>2</sub> i EP<sub>4</sub>).<sup>103</sup> Postoji topografska razlika u ekspresiji ovih receptora. U donjem uterinom segmentu viša je ekspresija EP<sub>2</sub> koji indukuju relaksaciju, dok je u fundusu viša ekspresija EP<sub>3</sub> receptora.<sup>104</sup> Usled ovoga PGE<sub>2</sub> uzrokuje različit odgovor miometrijuma. Generalno, PGE<sub>2</sub> stimuliše fundus ali ne i donji uterini segment, što ukazuje na funkcionalnu regionalizaciju uterusa.<sup>105,106</sup>

#### ***2.2.1.6. Mogući putevi signalizacije početka porođaja od strane fetusa***

Efektorni organi porođaja su miometrijum, cerviks i fetalne membrane. Fetus može signalizirati početak porođaja: 1) endokrinim putem, kada se iz fetalne cirkulacije u placenti oslobađaju molekuli koji do uterusa dopiru direktno ili putem maternalne cirkulacije ili 2) parakrinim putem, kada molekuli koje proizvode fetalni organi (pluća ili bubrezi), dospevaju u amnionsku šupljinu i utiču na fetalne membrane koje onda prenose signal do miometrijuma i cerviksa.<sup>107</sup>



Slika 5. Mogući putevi prenosa signala za pokretanje porođaja od conceptusa do majke

Aktuelna paradigma je da kada se jednom postigne zrelost, fetalni hipotalamus povećava sekreciju kortikotropnog rilizing hormona (CRH) koji stimuliše produkciju adrenokortikotropnog hormona (ACTH) kao i fetalnog kortizola od strane nadbubrega.<sup>108</sup> Porast kortizola kod ovaca i DHEA-S kod primata vodi aktivaciji zajedničkog mehanizma porođaja.<sup>109</sup>



Kod ovaca (ali ne i kod čoveka) fetalni kortizol indukuje ekspresiju 17- $\alpha$  hidroksilaze koja katalizuje konverziju progesterona u estrogen. Porast koncentracije estrogena odgovoran je za miometralne kontrakcije i početak porođaja. Liggins-ov eksperiment pokazuje da oštećenje fetalne adrenalne žlezde prolongira trudnoću.<sup>110</sup>

Pretpostavlja se da kod nehumanih primata sa nedostatkom 17- $\alpha$  hidroksilaze u placenti, ACTH stimuliše produkciju androgena koji se u placenti prevode u estrogene i iniciraju kaskadu događaja odgovornih za porođaj.<sup>111</sup> Challis i Lye smatraju da su razlike u mehanizmu porođaja ovaca i čoveka pomirljive.<sup>112</sup> Oni pretpostavljaju da kortizol kod primata ima najmanje tri važne funkcije: 1) podiže nivo produkcije prostaglandina u intrauterinim tkivima direktno ili indirektno stimulacijom produkcije PGHS-2, 2) stimuliše produkciju CRH u placenti i 3) inhibira enzim 15-OH prostaglandin dehidrogenazu<sup>113</sup> koji kataboliše prostaglandine.<sup>114</sup> CRH stimuliše produkciju prostaglandina i stimuliše fetalnu adrenalnu žlezdu na sekreciju DHAS, izvora estrogena koji pak povećava ekspresiju oksitocinskih receptora, “gap junctions”-a i prostaglandina.<sup>115,116</sup> Važno je napomenuti da dok suprimira produkciju CRH u pituitarnoj žlezdi, kortizol stimuliše placentnu produkciju CRH. U prilog značaju kortizola u humanom porođaju govori podatak da su koncentracije fetalnog plazma kortizola više kod humanih fetusa pre početka porođaja u kontekstu PPRM-a, a ovaj porast je udružen sa sindromom fetalnog inflamatornog odgovora.<sup>117</sup>

#### ***2.2.1.7. Porođaj kao inflamatorni proces***

Liggins je prvi uporedio sazrevanje cerviksa sa inflamatornim odgovorom. Od tada se gomilaju podaci da se inflamacija može detektovati u cerviksu, miometriju, horioamnijskim membranama i amnijskoj šupljini kod žena u porođaju. Spontani porođaj u terminu prati infiltracija ovih tkiva inflamatornim ćelijama<sup>118,119</sup> i porast produkcije proinflamatornih citokina (IL-1 $\alpha$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-8)<sup>120</sup> i hemokina.<sup>121,122,123</sup>

#### ***2.2.1.8. Uloga placentne***

Pre mnogo godina, Van Wageningen i Newton demonstrirali su da kod gravidnih primata hirurško uklanjanje fetusa (ali ne i placentne) ne remeti termin porođaja, te da je početak porođaja nezavistan od prisustva fetusa.<sup>124</sup> Drugi istraživači su kasnije pokazali da fetus igra značajnu ulogu u započinjanju porođaja kod primata.<sup>125</sup>

Pre 10-15 godina pretpostavljeno je da postoji placentni sat (“placental clock”) koji je aktivan od ranog stadijuma humane trudnoće i koji determiniše dužinu gestacije i vreme

porođaja. Ova pretpostavka je bazirana na rezultatima velike longitudinalne studije u kojoj su žene koje su rodile pre termina imale signifikantno više plazma koncentracije CRH nego one koje su rodile u terminu. Ove razlike su postojale već u periodu od 16-18. nedelje trudnoće.<sup>126</sup>

Udruženost visoke maternalne plazma koncentracije CRH i prevremenog porođaja potvrđena je i drugim studijama.<sup>127,128,129</sup> Prema “placental clock” hipotezi, stopa porasta maternalne plazma koncentracije CRH tokom trudnoće determiniše vreme porođaja koji nastupa kada se dostigne saturacija CRH “binding proteina” i slobodan CRH postane dostupan da pokrene porođaj.<sup>130</sup> Visoke koncentracije CRH opisane su kod žena sa hroničnim stresom, te je ovo stanje udruženo sa visokim rizikom prevremenog porođaja.<sup>129</sup>

## **2.2.2. Mehanizam inicijacije prevremenog porođaja i PPRM-a**

### **2.2.2.1. Prevremeni porođaj kao sindrom**

Aktuelna taksonomija obstetričkih bolesti uglavnom je bazirana na kliničkoj manifestaciji, a ne na mehanizmu bolesti odgovornom za tu kliničku manifestaciju. Termin “prevremeni porođaj” ne informiše nas o uzroku koji je doveo do tog stanja. Neprepoznavanje sindromske prirode obstetričkih bolesti odgovorno je za stavove da će se jednim dijagnostičkim testom prepoznati i jednim tretmanom izlečiti svako od ovih stanja.

Ključne odlike prevremenog porođaja kao obstetričkog sindroma<sup>130</sup> su: 1) multipla etiologija, 2) hronicitet, 3) fetalno učešće, 4) adaptivna priroda kliničke manifestacije i 5) predispozicija tj. interakcija gena i uslova sredine.

Patološko stanje koje dovodi do prevremenog porođaja odlikuje se hronicitetom. Na primer, intrauterina infekcija se može detektovati u vreme rutinske, genetičke amniocenteze u drugom trimestru trudnoće, a postati klinički evidentna nedeljama kasnije.<sup>131,132</sup> Fetalno učešće demonstrirano je kod žena sa mikrobijalnom invazijom amnionske šupljine. Fetalna bakterijemija se detektuje u 30% pacijenata sa PPRM-om i pozitivnom kulturom amnionske tečnosti.<sup>133</sup> Adaptivna priroda prevremenog porođaja u slučaju intraamnijalne infekcije ogleda se u tome da se početak porođaja može tumačiti kao mehanizam odbrane domaćina od infekcije, što omogućava majci da eliminiše inficirano tkivo, a fetusu da izađe iz neprijateljskog okruženja.<sup>134,135</sup> Predispozicija domaćina označena je kao “gene-environment interaction”.

Patološki procesi upleteni u sindrom prevremenog porođaja uključuju intrauterinu infekciju, uterinu ishemiju, prerastegnutost uterusa, abnormalnu reakciju alografta, alergiju, cervikalnu insuficijenciju i endokrine bolesti.

### 2.2.2.2. Intrauterina infekcija i inflamacija

Intrauterine infekcije u graviditetu su relativno česte i značajno doprinose morbiditetu majke i mortalitetu ploda. Njihovo kliničko ispoljavanje varira od najblažih formi koje prolaze nezapaženo, do najtežih oblika sa intrauterinom smrću ploda i septičkim stanjem trudnice. Ulogu infekcije u etiologiji prevremenog porođaja potvrđuje sledeće: 1) intrauterina infekcija rezultira prevremenim porođajem,<sup>136,137</sup> 2) sistemska infekcija majke (pijelonefritis, pneumonia) dovodi do prevremenog porođaja,<sup>138,139,140,141</sup> 3) subklinička intrauterina infekcija je udružena sa prevremenim porođajem,<sup>142</sup> 4) antibiotski tretman ascendentne intrauterine infekcije prevenira prematuritet,<sup>143,144</sup> 5) tretman asimptomatske bakteriurije prevenira pematurnitet.<sup>145</sup>

Mikrobiološke i histopatološke studije pokazuju da se infekcija/inflamacija javljaju u 40% prevremenih porođaja.<sup>146</sup> Incidenca pozitivne kulture amnionske tečnosti kod žena sa prevremenim porođajem i intaktnim membranama iznosi oko 13%.<sup>147</sup> Što je niža gestacijska starost pri porođaju, to je verovatnije da će mikrobijalna invazija amnionske šupljine biti prisutna.<sup>148</sup> Kod PPRM-a incidenca pozitivne kulture amnionske tečnosti iznosi oko 32.4%.<sup>149</sup> Najčešći mikroorganizmi nađeni u amnionskoj tečnosti su genitalne *Mycoplasme*.

Stav o hronicitetu intrauterine infekcije/inflamacije proizilazi iz studija o mikrobiološkom stanju amnionske tečnosti kao i o koncentraciji inflamatornih medijatora u vreme genetičke amniocenteze. Mikrobijalna invazija može biti klinički mirna u drugom trimestru, a pobačaj ili prevremeni porođaj može nastupiti nedeljama kasnije.

Koncentracija IL-6 u amnionskoj tečnosti smatra se markerom intraamnijalne inflamacije (najčešće udruženo sa mikrobiološkom infekcijom amnionske tečnosti ili horioamnionskog prostora).<sup>150,151,152</sup>

Najodmakliji i ozbiljan stadijum ascendentne intrauterine infekcije je fetalna infekcija. Pretpostavlja se da je prevremeni porođaj u kontekstu intrauterine infekcije mehanizam odbrane domaćina sa ciljem preživljavanja. Tokom ascendentne intrauterine infekcije mikroorganizmi mogu dopreti do decidue i stimulisati lokalnu inflamatornu reakciju kao što je produkcija proinflamatornih citokina, hemokina i inflamatornih medijatora. Ako ovaj inflamatorni proces nije suficijentan da da signal za početak porođaja, mikroorganizmi mogu proći kroz intaktne membrane u amnionsku šupljinu, gde takođe stimulišu produkciju inflamatornih medijatora od strane makrofaga i drugih ćelija domaćina u amnionskoj šupljini. Konačno, mikroorganizmi mogu prodrati u fetus i izazvati sistemski sindrom inflamatornog odgovora koga karakteriše porast fetalne plazma koncentracije IL-6 i drugih citokina,<sup>153,154</sup> neutrofilija i aktivacija monocita.<sup>155</sup>

Iako je učešće IL-1 i TNF- $\alpha$  u mehanizmu prevremenog porođaja ubedljivo, precizna uloga drugih proinflamatornih medijatora ostaje da bude rasvetljena. Uloga IL-1 i TNF- $\alpha$  u prevremenom porođaju uključuje sledeće: 1) IL-1a<sup>156</sup> i TNF-a<sup>157</sup> stimulišu produkciju prostaglandina od strane amniona, decidue i miometrijuma, 2) humana decidua produkuje IL-1a i TNF-a u odgovoru na bakterijske produkte,<sup>158</sup> 3) koncentracija i bioaktivnost IL-1a i TNF-a u amnionskoj tečnosti su povišene kod žena sa intraamnijalnom infekcijom i prevremenim porođajem,<sup>159,160</sup> 4) kod žena sa PPRM-om i intraamnijalnom infekcijom koncentracija IL-1a je u porođaju viša,<sup>159</sup> 5) IL-1a i TNF-a mogu indukovati prevremeni porođaj ako se sistematski daju trudnim životinjama,<sup>161</sup> 6) fetalni plazma IL-1 je značajno povišen u prevremenom porođaju sa intrauterinom infekcijom,<sup>162</sup> 7) placentno tkivo kod žena u porođaju, posebno onih sa horioamnionitisom, produkuje više IL-1a u odnosu na žene koje nisu u porođaju.<sup>163</sup>

Mikrobijalna invazija iz amnionske šupljine ka fetusu dovodi do fetalne infekcije i sistemskog inflamatornog odgovora poznatog kao “fetal inflammatory response syndrome” (FIRS). FIRS je subkličičko stanje opisano kod fetusa u prevremenom porođaju sa intaktnim membranama ili PPRM-om i definiše se kao koncentracija fetalnog plazma IL-6 preko 11 pg/ml.<sup>164</sup> IL-6 je glavni medijator odgovora domaćina na infekciju i oštećenje tkiva, sposoban da izazove biohemijske, fiziološke i imunološke promene u domaćinu, uključujući stimulaciju produkcije CRP-a od strane jetrenih ćelija, aktivaciju T i NK ćelija. Fetusi sa FIRS-om imaju višu stopu neonatalnih komplikacija i uglavnom se rađaju od majki sa subkličičkom invazijom amnionske šupljine.<sup>164</sup> Sistemski fetalni inflamatorni odgovor može progredirati do multiple organske disfunkcije,<sup>165</sup> septičkog šoka pa i smrti. Multisistemski karakter FIRS-a potvrđuje porast koncentracije fetalne plazma MMP-9, neutrofilija, veći broj cirkulišućih eritrocita i viši nivo plazmatskog G-CSF.<sup>153</sup> Histološki znaci FIRS-a su inflamacija pupčanika (funisitis) i horiovasculitis.<sup>166</sup> Neonatusi sa funisitisom imaju povećan rizik za neonatalnu sepsu<sup>167</sup> i dugoročne hendikepe kao što su BPD<sup>168</sup> i cerebralna paraliza.<sup>169,170</sup>

### **2.2.2.3. Uteroplacentna ishemija**

Histološke studije placenti pacijentkinja sa prevremenim porođajem i PPRM-om pokazuju da je posle inflamacije najčešći tip lezija vaskularne prirode i da se mogu naći i u maternalnom i u fetalnom kompartmanu.<sup>171</sup> Maternalne lezije uključuju oštećenje fiziološke transformacije spiralnih arterija, aterosku i trombozu, dok poremećaji fetalne cirkulacije

podrazumevaju smanjen broj arteriola u resicama i fetalnu arterijsku trombozu. Pretpostavljeni mehanizam koji povezuje vaskularne lezije i prevremeni porođaj je uteroplacentna ishemija.

Uloga vaskularnih lezija u mehanizmu prevremenog porođaja uključuje sledeće: 1) eksperimentalna uterina ishemija kod primata udružena je sa prevremenim porođajem,<sup>172</sup> 2) vaskularne lezije decidualnih krvnih sudova se češće javljaju kod prevremenih nego kod terminskih porođaja,<sup>173</sup> 3) placentna abrupcija je češća kod prevremenog nego kod terminskog porođaja,<sup>174,175</sup> 4) poremećaj fiziološke transformacije miometralnog segmenta spiralnih arterija nađen je kod žena sa prevremenim porođajem,<sup>176,177</sup> 5) prevremeni porođaj je češći kod žena sa povećanim otporom protoku krvi u uterinim krvnim sudovima nego kod onih sa urednim doppler parametrima,<sup>178,179,180</sup> 6) frekvencija SGA fetusa je češća kod žena sa prevremenim porođajem.

Molekularni mehanizam odgovoran za početak prevremenog porođaja u slučaju ishemije još uvek nije determinisan. Postulirana je uloga renin-angiotenzin sistema.<sup>181</sup> Uterina ishemija povećava produkciju uterinog renina,<sup>182</sup> a angiotenzin II indukuje miometralnu aktivnost direktno<sup>183</sup> ili putem oslobađanja prostaglandina.<sup>184</sup>

Kada je uteroplacentna ishemija dovoljno teška da dovede do decidualne nekroze i hemoragije, trombin može aktivirati mehanizam porođaja jer: 1) decidua je bogat izvor tkivnog faktora, primarnog inicijatora koagulacije i trombinske aktivacije,<sup>185</sup> 2) intrauterina administracija pune krvi trudnim ženama pacova stimuliše miometralnu kontraktilnost<sup>186</sup> suprotno hepariniziranoj krvi, 3) sveža puna krv stimuliše miometralnu kontraktilnost *in vitro*,<sup>186</sup> 4) trombin stimuliše kontraktilnost miometrijuma na dozno-zavistan način,<sup>186</sup> 5) trombin stimuliše produkciju MMP-1<sup>187</sup> i plazminogen aktivatora tipa urokinaze (uPA), kao i tkivnog tipa plazminogen aktivatora (tPA) od strane kulture stromalnih ćelija endometrijuma.<sup>188</sup> MMP-1 može razlagati kolagen direktno, dok uPA i tPA katalizuju transformaciju plazminogena u plazmin koji onda vrši degradaciju kolagena tipa III i fibronektina,<sup>189</sup> 6) trombin-antitrombin kompleksi (TAT) su povišeni u plazmi<sup>190</sup> i amnionskoj tečnosti<sup>191</sup> žena sa prevremenim porođajem, 7) porast plazma TAT kompleks koncentracije u drugom trimestru udružen je sa PPRM-om.<sup>192</sup>

Saznanje da trombin može igrati važnu ulogu u uterušnoj kontraktilnosti može objasniti kliničku observaciju da su retroplacentni hematomi u ranoj trudnoći udruženi sa prevremenim porođajem<sup>193</sup> kao i da je vaginalno krvarenje u prvom ili drugom trimestru faktor rizika za prevremeni porođaj.<sup>194,195</sup>

#### **2.2.2.4. Prerastegnutost uterusa**

Mehanizam odgovoran za porast frekvence prevremenih porođaja u multiplim gestacijama i drugim stanjima udruženim sa prerastegnutošću uterusa je nepoznat.<sup>196,197,198</sup>

Rastezanje uterusa može indukovati porođaj u terminu. Koncentracija PG F2 $\alpha$  u amnionskoj tečnosti i njegovog stabilnog metabolita u plazmi povišena je kod rastezanjem indukovano porođaja.<sup>199</sup> Centralno pitanje je kako uterus oseća rastezanje i kako ta mehanička sila indukuje biohemijske promene koje vode porođaju. Biohemijske konsekvence rastezanja miometrijuma su: porast ekspresije oksitocinskih receptora,<sup>200</sup> koneksina-43<sup>201</sup> i *c-fos* mRNA.<sup>202, 203, 204</sup> Progesteron blokira rastezanjem indukovanu gensku ekspresiju u miometrijumu.<sup>205</sup> Rastezanje može uticati i na horioamnionske membrane jer je u in vitro studijama uočen porast produkcije kolagenaze, IL-8<sup>206</sup> i prostaglandina,<sup>207</sup> što ukazuje na moguću povezanost prerastegnutosti uterusa i ruptur membrana.<sup>208,209</sup>

#### **2.2.2.5. Abnormalna reakcija alografta**

Fetoplacentna jedinica se smatra najuspešnijim semi-alograftom u prirodi, a abnormalnosti u prepoznavanju i adaptaciji na fetalne antigene smatraju se mehanizmom ponovljenih pobačaja, intrauterinog zastoja rasta i pre-eklampsije.<sup>210,211</sup> Hronični vilitis je lezija indikativna za "placentno odbacivanje", a takve lezije su nađene i u većine placenti nakon spontanog prevremenog porođaja.<sup>212</sup> Uočeno je da neke žene sa prevremenim porođajem u odsustvu infekcije imaju povišenu koncentraciju IL-2 receptora,<sup>213</sup> što se smatra ranim znakom odbacivanja kod negravidnih pacijenata sa renalnim transplantatima.<sup>214</sup> Dalje studije bi trebalo da definišu frekvencu i kliničku signifikantnost ovog patološkog procesa u prevremenom porođaju.

#### **2.2.2.6. Alergijski indukovani prevremeni porođaj**

Ranih devedesetih godina postavljen je koncept da u etiologiji prevremenog porođaja značajnu ulogu ima mehanizam sličan alergiji (hipersenzitivna reakcija tipa I).<sup>215</sup> S obzirom da se prisustvo eozinofila u telesnim tečnostima generalno smatra indikatorom alergijske reakcije, eozinofilija u amnionskoj tečnosti pacijenata sa prevremenim porođajem smatra se formom uterine alergije. Ovu teoriju podržava činjenica da je gravidni uterus bogat izvor mastocita, efektivnih ćelija alergijskog odgovora.<sup>216</sup> Neki produkti degranulacije mastocita (histamin i prostaglandini) mogu indukovati kontaktne miometrijuma.<sup>217</sup> Prevremeni porođaj indukuje ekspozicija nekom alergenu, a može se prevenirati davanjem antagonista histaminskih (H1) receptora.<sup>218</sup>

### **2.2.2.7. Cervikalna insuficijencija**

Mada se cervikalna insuficijencija tradicionalno smatra uzrokom pobačaja u drugom trimestru, mnoge činjenice pokazuju da ona može biti i uzrok spontanog prevremenog porođaja.<sup>219</sup> Cervikalna insuficijencija može biti rezultat kongenitalnih oboljenja (hipoplastičan cerviks ili ekspozicija dietilstilbestrolu in utero), hirurške traume (konizacija) ili traumatskog oštećenja strukturnog integriteta cerviksa (ponavljane cervikalne dilatacije udružene sa prekidom trudnoće).<sup>220</sup>

### **2.2.2.8. Progesteronska deficijencija kao mehanizam prevremenog porođaja**

Spektar reproduktivnih anomalija udruženih sa deficitom progesterona je veoma širok. Insuficijentna lutealna faza se naširoko smatra uzrokom infertiliteta.<sup>221</sup> Ovo stanje se može definisati kao defekt progesteronske sekrecije od strane korpus luteuma ili kao defekt u endometrijalnom odgovoru na progesteron.<sup>222</sup>

S obzirom da ne postoji generalna saglasnost oko kriterijuma za dijagnozu insuficijentne lutealne faze,<sup>223</sup> njena klinička signifikantnost i učesće u lošem ishodu trudnoće ostaju nerazjašnjeni. Nekoliko patoloških mehanizama pokušava objasniti insuficijentnu lutealnu fazu, ali njena precizna etiologija i dalje ostaje nejasna.<sup>224</sup> Progesteronska suplementacija u ovakvim slučajevima nekada može poboljšati ishod trudnoće i smanjiti stopu ponovljenih pobačaja.<sup>225,226,227</sup>

Smanjenje funkcije progesterona može biti rezultat i drugih patoloških mehanizama, kao na primer intrauterine infekcije. Bakterijski indukovani prevremeni porođaj praćen je signifikantnim padom serumske koncentracije progesterona.<sup>228</sup> LPS i proinflamatorni citokini indukuju sintezu prostaglandina i luteolizu. Proinflamatorni citokini mogu imati direktni antigonadotropni efekat i vršiti supresiju produkcije progesterona ili IL-1 stimuliše NF-kappaB<sup>229,230</sup> što dovodi do porasta COX-2 i prostaglandinske produkcije, a time i do represije funkcije progesterona tj, njegovog funkcionalnog pada i prevremenog porođaja.<sup>231</sup>

### **2.2.2.9. Specifični mehanizmi upleteni u prevremeni porođaj**

Prevremena aktivacija decidue/membrana vodi PPRM-u u 40% svih prevremenih porođaja. Histološke studije membrana kod žena sa terminskim PROM-om ukazuju da prevremeno rupturirane membrane imaju smanjen broj kolagenih fibrila, disrupciju normalne talasaste strukture ovih fibrila kao i taloženje amorfnih supstanci među njima.<sup>232</sup> Iste promene su nađene i kod membrana žena porođenih u terminu elektivnim carskim rezom sa intaktnim membranama.<sup>233</sup>

Mada spontana ruptura membrana normalno nastupa na kraju prvog porođajnog doba, proces odgovoran za ovaj fenomen počinje pre početka porođaja. Histološka ispitivanja mesta ruptur pokazuju “zonu alterirane morfologije” (ZAM)<sup>234</sup> sa značajnim smanjenjem kolagena tipa I, III ili V i povećanom ekspresijom tenascin-a. Ekspresija tenascina se karakteristično događa tokom remodeliranja tkiva i zarastanja rana. Njegova identifikacija u membranama nagoveštava prisustvo oštećenja (povrede) i odgovor sličan zarastanju rana. Pretpostavlja se da su promene u ZAM-u mnogo ekstenzivnije u slučaju PPROM-a.<sup>235,236</sup>

Strukturni proteini ekstracelularnog matrixa kao kolagen, značajni su za snagu rastezanja membrana, dok se njihova elastičnost pripisuje elastinu.<sup>237</sup> Rastvaranje ekstracelularnog matrixa (fibronektina) se smatra odgovornim za procese koji dozvoljavaju membranama da se odvoje od decidue nakon rađanja fetusa. Onkofetalni fibronektin se može naći u vagini kod terminskog kao i kod prevremenog porođaja.<sup>238,239,240</sup> Prema tome, degradacija ekstracelularnog matrixa određena detekcijom onkofetalnog fibronektina predstavlja deo mehanizma porođaja.

Precizan mehanizam membrano-decidualne aktivacije ostaje da bude rasvetljen. Pretpostavlja se da značajnu ulogu u tom procesu imaju matrix degradirajući enzimi i apoptoza. Uočena je povećana raspoloživost MMP-1,<sup>241</sup> MMP-8,<sup>242</sup> MMP-9 i neutrofilne elastaze<sup>243</sup> u amnionskoj tečnosti kod žena sa PPROM-om, u odnosu na žene sa prevremenim porođajem i intaktnim membranama. Plazmin takođe ima ulogu u ovom procesu jer vrši degradaciju kolagena tipa III i fibronektina.<sup>244</sup> Apoptoze su takođe važne u mehanizmu membranske ruptur.<sup>245,246</sup> Ruptura membrana je udružena sa prekomernom ekspresijom proapoptotičkih gena i smanjenom ekspresijom antiapoptotičkih gena.<sup>247</sup>

#### ***2.2.2.10. Interakcija gena i uticaja sredine***

Interakcija gena i uticaja sredina važna je za razumevanje mnogih kompleksnih oboljenja kao što su ateroskleroza, obesitas, hipertenzija. Ova interakcija postoji kada je rizik oboljevanja među individuama izloženim uticaju genotipa i faktora sredine viši ili niži od rizika koji postoji u prisustvu samo jednog od ovih faktora.<sup>248,249</sup> Primer ove interakcije je bakterijska vaginoza, alel za TNF- $\alpha$  i prevremeni porođaj. Bakterijska vaginoza je faktor rizika za spontani prevremeni porođaj. Žene sa bakterijskom vaginozom i TNF- $\alpha$  alelom 2 su zbog ove interakcije predisponirane za prevremeni porođaj.<sup>250,251</sup>



### 3. ULOGA CITOKINA I DRUGIH INFLAMATORNIH MEDIJATORA U PREVREMENOM POROĐAJU

#### 3.1. CITOKINI I TRUDNOĆA

Citokini su niskomolekularni glikoproteini koji se vezuju za receptore na površini ćelija aktivirajući mehanizme ćelijske proliferacije i/ili diferencijacije, aktivacije, inhibicije i apoptoze. Ćelije koje luče najveće količine citokina su leukociti, ali i veliki broj različitih tipova ćelija koje nemaju naročitog udela u imunoj reakciji.<sup>252</sup> Citokini koje luče limfociti nazvani su limfokini, monocitni i makrofagalni citokini su nazvani monokini, dok su mnogi limfokini poznati kao interleukini.

Citokini su podeljeni na citokine Th<sub>1</sub> i Th<sub>2</sub> grupe. Th<sub>2</sub> ćelije luče uglavnom antiinflamatorne citokine, ali i manji broj proinflamatornih (IL-8), koji posreduju reakcije humoralnog imuniteta. tj. aktivaciju B ćelija i njihovu diferencijaciju u plazma ćelije te lučenje antitela, dok Th<sub>1</sub> ćelije luče uglavnom proinflamatorne citokine, ali i neke antiinflamatorne (IL-11), koji uglavnom posreduju reakcije ćelijskog imuniteta. Osim Th<sub>1</sub> i Th<sub>2</sub> limfocita, citokine proizvode i veliki broj imunokompetentnih i drugih nelimfoidnih ćelija (makrofagi, stromalne i žlezdane ćelije). Jedan isti citokin može da bude produkovan od strane različitih tipova ćelija.

Tokom trudnoće razvija se sistemska supresija Th<sub>1</sub> citokinskog odgovora i facilitacija Th<sub>2</sub> odgovora, što ima presudnu ulogu u očuvanju normalne humane trudnoće. Prevalencija Th<sub>2</sub> citokina suprimira produkciju Th<sub>1</sub> citokina, te ispoljenost receptora za Th<sub>1</sub> citokine. U prilog trudnoće kao Th<sub>2</sub> fenomena govori i podatak da kod žena sa ćelijski posredovanim autoimunim poremećajima (reumatoidni artritis) dolazi do remisije simptoma tokom trudnoće. Za razliku od toga, sistemski eritemski lupus koji se karakteriše velikom proizvodnjom autoantitela pogoršava se tokom trudnoće. Promene koje se događaju tokom trudnoće najverovatnije su pod hormonskim uticajem progesterona i možda IL-10 koji su poznati kao induktori Th<sub>2</sub> ćelija.

Odnos ćelija koje luče citokine, ćelija na koje citokini deluju i samih citokina, može se opisati kao parakrini i autokrini. Jedan od neuobičajenih efekata citokina je endokrini efekat IL-1, koji svojim dejstvima na hipotalamus uzrokuje hipertermiju.<sup>252,253</sup>

Sve ove osobine čine citokine izuzetnim i jedinstvenim regulatornim faktorima mnogih bioloških funkcija kao što su imuna reakcija, inflamacija, hematopoeza, rast, obnavljanje, proliferacija, apoptoza, diferencijacija, aktivacija ili inhibicija ćelija i sl. Danas se smatra da citokini učestvuju i u regulaciji procesa kao što su ovulacija, implantacija, rast i diferencijacija trofoblasta, embrionalni i fetalni rast, uspostavljanje i održavanje gravidarne imunoregulacije, maturacija fetalnih pluća, priprema grlića i donjeg uterineg segmenta za porođaj, pa i sam porođaj.

### 3.1.1. Interleukin-1

Interleukin-1 je zajedničko ime za dva posebna proteina, IL-1 $\alpha$  i IL-1 $\beta$ , koji su prvi u nizu velike porodice regulatornih citokina nazvanih *interleukini*.<sup>254</sup> Ovaj citokin zajedno sa IL-8 igra važnu ulogu u regulaciji akutnog inflamatornog procesa,<sup>253,255,256</sup> ali njegova biološka uloga nije vezana samo za zapaljenjske procese. On se pojavljuje kao faktor oblikovanja i remodeliranja kostiju, regulator sekrecije insulina, regulator apetita, pirogeni faktor, regulator hemopoeze, a pokazuje i protektivne efekte kod trovanja i radijacije.<sup>257</sup>

Glavni izvor IL-1 su monociti i makrofazi stimulirani zapaljenjskim uzročnicima kao što su bakterije ili imuno-kompleksi. Prva reakcija na oslobađanje IL-1 dolazi od samih makrofaga u smislu njihove aktivacije i od kapilarnih endotelnih ćelija koje počinju sa ekspresijom adhezivnih molekula i izlučivanjem hemokina.<sup>253,258,259</sup> Hemokini uslovljavaju hemotaksu mono i polimorfonuklearnih ćelija prema endotelnim ćelijama, a eksprimirani adhezivni molekuli na endotelnim ćelijama omogućavaju vezivanje i prolazak mono i polimorfonukleara kroz zid kapilara do mesta zapaljenja. Jedna od najvažnijih funkcija IL-1 u aktivaciji imunog odgovora je stimulacija Th<sub>1</sub> i Th<sub>2</sub> limfocita, a samim tim i započinjanje kaskade celularnog i humoralnog imunog odgovora.<sup>260,261</sup>

Iako spada u proinflamatorne citokine, IL-1 nema jasno definisane negativne efekte po sudbinu trudnoće kao što je to slučaj sa IL-2, IL-12, TNF- $\alpha$  i IFN-g. Ovo je verovatno posledica paralelne stimulacije sekrecije citokina Th<sub>1</sub> i Th<sub>2</sub> grupe.

Neki autori vide najveći značaj IL-1 u procesima nidacije, placentacije i kontrole trofoblastne invazije. Poznato je da ćelije blastociste luče male količine IL-1, koji najverovatnije preko prostaglandinskih mehanizama iniciraju formiranje male, cirkularne zapaljenjske zone na mestu njene buduće nidacije, što je prvi i neophodni korak prema uspešnoj nidaciji. Osim toga, IL-1 stimuliše izlučivanje vaskularnog endotelijalnog faktora rasta (VEGF), koji stimuliše angiogenezu u zoni nidacije, što verovatno olakšava nidaciju i ishranu još uvek avaskularnog konceptusa.<sup>262</sup> Uloga IL-1 u kontroli trofoblastne invazije

odvija se preko stimulacije decidualnih NK ćelija koje pod uticajem IL-1 sekretuju faktor inhibicije leukemije (LIF). Ovaj faktor stimuliše sekreciju trofoblastnih enzima koji olakšavaju njegovu invaziju prema decidui.<sup>262</sup>

Osim navedenih efekata, neosporno je dokazana uloga IL-1 u procesima kao što su ovulacija, cervikalna dilatacija, porođaj i naročito prevremeni porođaj.<sup>263</sup> Povećana koncentracija IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-8 i IL-6 u plodovoj vodi je nađena kod većine dijagnostikovanih horioamnionitisa.<sup>263</sup>

I pored toga što IL-1 predstavlja jedan od faktora pokretanja mehanizama prevremenog porođaja, intraamnijalni IL-1 ima pozitivno dejstvo na sintezu surfaktanta, tako da se u slučajevima horioamnionitisa, paralelno odvija proces ubrzane plućne maturacije fetusa i njegove pripreme za prevremeno radjanje.<sup>264</sup>

### 3.1.2. Interleukin-2

Interleukin-2 primarno sintetišu i sekretuju Th<sub>1</sub> ćelije.<sup>265</sup> Sam IL-2 povećava sekreciju IL-2 iz Th<sub>1</sub> ćelija i povećava broj receptora za IL-2. Na nivou Th<sub>1</sub> ćelija IL-2 je autokrini faktor. Parakrina funkcija IL-2 se ogleda u njegovom uticaju na ostale imunokompetentne ćelije, kao i somatske ćelije. B limfociti, CTL i NK ćelije veoma su osetljive na stimilirajuće signale IL-2.<sup>266,267</sup> CTL i NK ćelije stimulisane IL-2 pokazuju visok stepen citotoksičnosti i nazivaju se *Lymphocyte Activated Killer* (LAK) ćelije.<sup>267</sup>

Iako moderna shvatanja uloge IL-2 u trudnoći podrazumevaju paralelnu akceleraciju Th<sub>1</sub> i Th<sub>2</sub> odgovora, izgleda da su efekti IL-2 na Th<sub>1</sub> odgovor dominantni, tako da se generalno može reći da IL-2 ima negativni uticaj na trudnoću.

Imuni mehanizmi koji posreduju u razvijanju drastičnih efekata IL-2 na sudbinu trudnoće najverovatnije su sadržani u aktivaciji decidualnih CTL i NK ćelija. Nakon njihove aktivacije, dolazi do infiltracije ovih ćelija u posteljična tkiva i iniciranja citolize trofoblastnih ćelija apoptotičkim mehanizmima. Prodorom u posteljične krvne sudove, CTL i NK ćelije započinju klasičnu reakciju aloimunog odbacivanja endotelnih ćelija, dovode do tromboziranja posteljičnih krvnih sudova i prekida fetoplacentne cirkulacije.<sup>268,269,270,271</sup>

Produkcija IL-2 od strane limfocita za vreme normalne trudnoće je veoma niska i održava se na ovom nivou do termina, da bi se postepeno povećavala i dosegla fizioloske vrednosti u intervalu od 2 do 11 meseci posle porođaja.<sup>272</sup> Razlozi za aktivaciju Th<sub>1</sub> odgovora u trudnoći su mnogobrojni i objašnjavaju se raznim mehanizmima od konstitucionalnih specifičnosti Th<sub>1</sub>/Th<sub>2</sub> balansa, preko infektivnih, pa do takozvanih nepovoljnih kombinacija paternalnog i maternalnog MHC genotipa/fenotipa.<sup>273</sup>

Povećana IL-2 aktivnost u drugoj polovini trudnoće najčešće rezultuje razvijanjem preklampsije ili eklampsije, prevremenim porođajem i zastojem u rastu.

### **3.1.3. Interleukin-3**

Interleukin-3 produkuju i Th<sub>1</sub> i Th<sub>2</sub> ćelije, mada se smatra da su Th<sub>2</sub> limfociti značajniji izvor ovog citokina. IL-3 stimuliše proliferaciju i diferencijaciju eritrocitne, trombocitne, granulocitne i limfocitne prekursorske kaskade. Uloga IL-3 u imunoj reakciji, inflamatornoj kaskadi i trudnoći je potvrđena, ali za sada još nedovoljno precizno definisana. Postoje izveštaji koji svedoče o ulozi IL-3 u mehanizmima diferencijacije trofoblasta i mehanizmima supresije decidualne NK aktivnosti.<sup>252,274,275</sup>

### **3.1.4. Interleukin-4**

Interleukin-4 spada u Th<sub>2</sub> limfokine, a najizraženije i njegovo primarno dejstvo je snažno podsticanje humoralne imune reakcije. Efekti IL-4 na B ćelije su uglavnom sadržani u stimulaciji proliferacije, diferencijacije i produkcije antitela. IL-4 je naročito aktivan u stimulaciji sekrecije IgE i ostalih subklasa antitela koja učestvuju u alergijskim reakcijama.

U sadejstvu sa IL-10, IL-4 snažno inhibira aktivnost Th<sub>1</sub> limfocita, a osim toga IL-4 ima inhibitorno dejstvo na već aktivirane makrofage, CTL i NK ćelije i igra važnu ulogu regulatora balansa između celularnog i humoralnog tipa imunog odgovora.

Nivo ovog limfokina u perifernoj krvi zdravih trudnica se progresivno smanjuje tokom cele trudnoće, što nije uobičajena pojava za citokine Th<sub>2</sub> grupe.

Uloga IL-4 kao protektivnog Th<sub>2</sub> citokina u odnosu na fetoplacentnu jedinicu dosta je protivurečna. Podaci govore da značajna stimulacija Th<sub>2</sub> odgovora u trudnoći može dovesti do razvijanja fetalne resorpcije i preeklampsiji sličnog sindroma, kao i u slučaju aktivacije Th<sub>1</sub> odgovora.

### **3.1.5. Interleukin-5**

Interleukin-5 spada u Th<sub>2</sub> citokine i snažno stimuliše diferencijaciju B limfocita, kao i produkciju antitela, a poznat je i kao faktor rasta i diferencijacije eozinofilnih leukocita. Najznačajnije količine IL-5 se sekretuju od strane Th<sub>2</sub> limfocita i mastocita.<sup>276</sup> Efekti IL-5 na Th<sub>1</sub> limfocite, makrofage i efektorne ćelije kao što su CTL i NK ćelije je inhibitorni.<sup>277</sup>

Koncentracija IL-5 u serumu gravidnih jedinki se povećava tokom trudnoće, što je u vezi sa progesteronskim mehanizmom stimulacije sekrecije svih citokina Th<sub>2</sub> grupe.<sup>278</sup> Značaj

IL-5 u mehanizmima gravidarne imunoregulacije i imunopatologije trudnoće je prilično protivurečan.

### 3.1.6. Interleukin-6

Monociti, makrofazi, trofoblast i ćelije kostne srži sekretuju IL-6, ali najznačajnije količine ovog citokina dolaze iz pula Th<sub>2</sub> ćelija. IL-6 stimuliše proliferaciju B limfocita i njihovo sazrevanje u plazma ćelije, kao i produkciju antitela. Diferencijacija ćelija mijeloidne loze je skoro nemoguća bez IL-6. Zbog svoje uloge u inflamatornoj kaskadi i sposobnosti stimulacije hepatocitne produkcije i sekrecije proteinskih medijatora zapaljenjske reakcije, nazvan je *faktorom hepatocitne stimulacije*.<sup>279</sup> Osim ovih efekata, IL-6 snažno podstiče sintezu glukokortikoida u nadbubrežnim žlezdama. Iako spada u antiinflamatorne citokine, dejstva IL-6 su veoma slična IL-1, IL-2 i IFN-g. IL-6 ne podstiče sekreciju citokina, ali povećava osetljivost imunokompetentnih ćelija na ostale citokine, najverovatnije uticajem na broj i afinitet citokinskih receptora. Produkcija i sekrecija IL-6 se uvek povećava u akutnoj fazi zapaljenja, a kao najvažniji stimulatori produkcije IL-6 pominju se IL-1 i TNF-a.

IL-6 je jedan od najaktivnijih citokina u trudnoći. Veliki broj decidualnih imunokompetentnih ćelija produkuje IL-6, a najviše Th<sub>2</sub> ćelije, NK ćelije i mononuklearne ćelije.<sup>281,282</sup> Citotrofoblast i sinciotrofoblast eksprimiraju receptore za IL-6, a same ćelije ovih tkiva reaguju na IL-6 pojačanom proliferacijom.<sup>275,283</sup> Od svih citokina koji stimulišu proliferaciju citotrofoblasta, IL-6 pokazuje najveću aktivnost.<sup>283</sup> S obzirom da spada u grupu Th<sub>2</sub> citokina, nivo sekrecije IL-6 značajno se povećava u trudnoći. Pretpostavlja se da je uloga IL-6 u trudnoći stimulacija i obezbeđivanje prevage Th<sub>2</sub> nad Th<sub>1</sub> tipom imunog odgovora. Naime, citokini IL-1b i TNF-a podstiču i kontrolišu sekreciju IL-6, pa u slučajevima akceleracije Th<sub>1</sub> tipa odgovora i povećanja sekrecije IL-1b i TNF-a, dolazi do posledične stimulacije sekrecije IL-6, koji sa svoje strane suprimira aktivnost Th<sub>1</sub> i favorizuje aktivnost Th<sub>2</sub> limfocita, što je za dalji tok trudnoće povoljnija varijanta.<sup>284</sup>

Zbog vrlo snažne stimulacije produkcije antitela koja u trudnoći mogu da budu usmerena protiv posteljinih tkiva i ne sasvim bezopasna, povećana sekrecija IL-6 bi mogla da kompromituje trudnoću.

IL-6 zajedno sa IL-4 stimuliše produkciju β HCG-a i na taj način podstiče produkciju progesterona iz žutog tela trudnoće.<sup>282,285</sup> Osim navedenih efekata, IL-6 igra značajnu ulogu u procesima nidacije, placentacije, predporodajne cervikalne dilatacije, inicijacije materičnih kontrakcija i porođaja. Veliki broj radova potvrđuje značajan skok koncentracija IL-6 u predporodajnoj cervikalnoj sluzi, cervikalnom tkivu, plodovim ovojima, plodovoj vodi i

serumu trudnice, bilo da se radi o porođaju komplikovanom horioamnionitisom ili infektivnim agensima nekomplikovanom porođaju, terminskom ili preterminskom porođaju.<sup>263</sup> Naravno, koncentracija IL-6 u plodovim ovojkama i plodovoj vodi je značajno viša kada je prisutan horioamnionitis.<sup>263,286</sup>

### **3.1.7. Interleukin-7**

Interleukin-7 je jedan od slabije proučenih citokina. Najznačajniji izvor IL-7 predstavljaju stromalne ćelije timusa i kostne srži. Jedan od najbolje proučenih i potvrđenih efekata IL-7 je stimulacija i kontrola T i B limfopoeze.

### **3.1.8. Interleukin-8**

Interleukin-8 pripada porodici proteinskih medijatora čija je osnovna karakteristika hemotaktička aktivnost prema imunokompetentnim ćelijama. Ovaj citokin produkuje limfociti, monociti, neutrofilni granulociti i NK ćelije. Osim hemotakse, IL-8 kod granulocitnih leukocita izaziva degranulaciju. Spada u proinflamatorne citokine, a najznačajniji pul sekrecije su Th<sub>2</sub> ćelije.<sup>287</sup>

Obzirom na ulogu IL-8 u inflamatornoj kaskadi, svi reproduktivni procesi zavisni od aktivacije i pravilnog odvijanja inflamatorne kaskade, podrazumevaju učešće IL-8. Ovulaciji prethodi jedan pravi fokalni inflamatorni proces, koji zahvata samo jedan manji deo zida folikula na mestu buduće rupture. Granulocitni leukociti i IL-8 imaju veoma važnu ulogu u ovom procesu. Uloga IL-8 u procesu uspostavljanja i održavanja gravidarne imunoregulacije nije dokazana, ali se IL-8 veoma često pominje kao medijator predporođajne cervikalne dilatacije, prevremenog pucanja plodovih ovojaka, terminskog i preterminskog porođaja.<sup>288</sup> Koncentracija IL-8 u perifernoj krvi, cervikalnoj sluzi, plodovim ovojkama, plodovoj vodi i donjem uterinom segmentu se značajno povećava u slučajevima nastupajućeg preterminskog i terminskog porođaja, horioamnionitisa ili preteće rupture plodovih ovojaka.<sup>263,286</sup>

### **3.1.9. Interleukin-9**

Interleukin-9 spada u citokine sa izraženim mitogenim i hematopoetskim dejstvom. Ovaj citokin produkuje T limfociti. Preko transmembranskih receptora IL-9 upućuje signale o proliferaciji, diferencijaciji i apoptozi ćelija koje učestvuju u hematopoezi i timopoezi.<sup>289</sup> Učešće IL-9 u aktivaciji i održavanju gravidarne imunoregulacije nije dokazano. Najvažnija uloga IL-9 u trudnoći je stimulacija fetalne hematopoeze i timopoeze.<sup>290</sup>

### 3.1.10. Interleukin-10

Interleukin-10 spada u antiinflamatorne i Th<sub>2</sub> citokine. Snažno suprimira produkciju većine preostalih citokina, zbog čega je nazvan *Faktor inhibicije sinteze citokina* (CsFI). Efekti IL-10 su antiinflamatorni i imunomodulatorni u smislu favorizacije Th<sub>2</sub> i snažne supresije Th<sub>1</sub> tipa odgovora.<sup>291,292</sup> Mehanizam stimulacije Th<sub>2</sub> odgovora od strane IL-10 nije sadržan u stimulaciji sekrecije ostalih citokina Th<sub>2</sub> grupe jer on inhibiše sekreciju čak i ovih citokina. Glavni mehanizam preko koga IL-10 doprinosi dominaciji Th<sub>2</sub> nad Th<sub>1</sub> odgovorom je antiapoptotičko dejstvo IL-10 na Th<sub>2</sub> limfocite.<sup>292,293,294</sup> Osim toga, IL-10 kod B limfocita podstiče diferencijaciju u plazmocyte i produkciju antitela.<sup>293,294,295</sup>

IL-10 sintetišu pre svega Th<sub>2</sub> limfociti, mada se zna da B limfociti, aktivirani makrofazi, Th<sub>1</sub> limfociti, trofoblastne ćelije i ćelije nekih karcinoma mogu da budu izvor značajnijih količina IL-10. Receptore za IL-10 poseduje većina imunokompetentnih ćelija, trofoblastne i sinciotrofoblastne ćelije, ćelije nekih epitela i nervne ćelije.<sup>293,295</sup>

Mehanizmi kojima IL-10 doprinosi uspostavljanju i održavanju gravidarne imunoregulacije vezani su za njegovo direktno immunosupresivno dejstvo na APCs, Th<sub>1</sub> limfocite, CTL i NK ćelije, kao i za jedinstveni fenomen supresije ekspresije MHC antigena klase II na imunokompetentnim ćelijama.<sup>296</sup> Za gravidarnu imunomodulaciju je naročito važan ovaj mehanizam supresije ekspresije MHC antigena klase II, čime IL-10 doprinosi presecanju glavnih puteva aktivacije Th<sub>1</sub> ćelija i efektornih ćelija.<sup>274,281,282,296</sup> Supresija CTL posredovana IL-10, uglavnom se zasniva na njegovim antiproliferativnim efektima. Efikasnom blokadom proliferativnih i aktivacionih efekata IL-2 na CTL i NK ćelije, IL-10 se ubraja u red najefikasnijih i najvažnijih tzv. embrioprotektivnih faktora.

Serumske koncentracije IL-10 su značajno više kod zdravih trudnica nego kod trudnica čija je trudnoća komplikovana PIH sindromom, preeklampsijom ili eklampsijom.<sup>297,298</sup> Najznačajniji izvor IL-10 u trudnoći su decidualne imunokompetentne ćelije i trofoblast.<sup>274</sup> Sa starenjem posteljice i približavanjem terminu porođaja, trofoblastna produkcija IL-10 se progresivno smanjuje.<sup>299</sup>

### 3.1.11. Interleukin-11

Interleukin-11 je citokin koga luče ćelije strome kostne srži. Hematopoetsko i trombopoetsko dejstvo su primarni efekti IL-11.<sup>281,282</sup> Veoma malo radova se bavi istraživanjem uloge IL-11 u trudnoći.

### **3.1.12. Interleukin-12**

Interleukin-12 luče B limfociti. Ovaj citokin stimuliše aktivnost CTL, NK ćelija i Th<sub>1</sub> limfocita. Novija istraživanja potvrđuju snažno stimulatorno dejstvo IL-12 na makrofage i ostale imunokompetentne ćelije.<sup>300</sup> Produkcija IFN-g i TNF-a u prisustvu IL-12 se višestruko povećava. Obzirom da IL-12 luče B limfociti koji su prvenstveno pod kontrolom Th<sub>2</sub> limfocita, svaka akceleracija Th<sub>2</sub> odgovora vodi u stimulaciju B limfocita i povećanje produkcije IL-12, tako da bi IL-12 mogao biti karika koja akceleraciju Th<sub>2</sub> odgovora posredno prevodi u akceleraciju Th<sub>1</sub> odgovora.<sup>300</sup> Novija istraživanja pokazuju da je IL-4 dominantni citokin u odnosu na IL-12 i da se imuni odgovor u uslovima istovremenog pojavljivanja značajnih koncentracija IL-4 i IL-12 ipak odvija u pravcu Th<sub>2</sub> tipa odgovora, te da je IL-12 sekretovan iz B ćelija u uslovima akceleracije Th<sub>2</sub> tipa odgovora zbog istovremenog izlučivanja IL-4, ipak u nemogućnosti da preokrene smer imune reakcije u smeru Th<sub>1</sub> tipa odgovora.<sup>255,301</sup> IL-12 spada u faktore koji se mogu registrovati u trudnoćama komplikovanim pretećim pobačajem, PIH sindromom, eklampsijom i preeklampsijom.

### **3.1.13. Interleukin-13**

Interleukin-13 je citokin koga luče Th<sub>2</sub> ćelije, a čiji su efekti slični efektima IL-4. Malobrojne studije svedoče o skoro identičnoj ulozi IL-13 i IL-4 u mehanizmima gravidarne imunoregulacije.<sup>302,303</sup>

### **3.1.14. Interleukin-14**

Interleukin-14 ima veoma izraženo dejstvo stimulacije proliferacije B limfocita, njihove diferencijacije i maturacije. Luče ga prvenstveno dendritične ćelije i T limfociti.<sup>304,305</sup> Spada u najmanje proučene citokine, dok je njegova uloga u trudnoći potpuno nepoznata.

### **3.1.15. Interleukin-15**

Interleukin-15 je Th<sub>2</sub> citokin koga luče Th<sub>2</sub> ali i B limfociti, CTL, NK i mnoge druge ćelije. IL-15 igra regulatornu ulogu u funkciji velikog broja ćelija, tkiva i organa kao što su, srčani mišić, pluća, jetra, posteljica, skeletni mišići, mononuklearne ćelije i fibroblasti. Biološka aktivnost IL-15 je veoma slična IL-2 i sadržana je u stimulaciji proliferacije NK ćelija, aktivaciji T limfocita, tumor infiltrišućih i B limfocita.<sup>306,307</sup>

Produkcija placentnog IL-15 tokom trudnoće se linearno povećava. S obzirom da se radi o citokinu Th<sub>2</sub> grupe, nivo produkcije IL-15 kod preeklampsijskih pacijentkinja je značajno manji nego kod zdravih trudnica.<sup>308</sup> Osim posteljice, zabeležena je i



endometrijalna, odnosno decidualna produkcija IL-15. Produkcija IL-15 se povećava u periovulatornoj fazi, da bi nastavila linearni rast u sekretornoj fazi ciklusa. Ukoliko dođe do trudnoće i decidualne transformacije endometrijuma, decidualna produkcija IL-15 linearno raste do kraja trudnoće.<sup>309</sup>

### **3.1.16. Interleukin-16**

Interleukin-16 proizvode Th<sub>1</sub> ćelije, eozinofilni granulociti i epitelne ćelije respiratornog sistema. Najznačajniji efekti IL-16 su stimulacija ekspresije IL-2R i uloga hemotaksina za CD4<sup>+</sup> limfocite.<sup>310,311</sup>

Koncentracija IL-16 u amnionskoj tečnosti je obrnuto proporcionalna gestacijskoj starosti. Pucanje plodovih ovoja u terminu kod trudnica bez horioamnionitisa je praćeno značajnim padom koncentracija IL-16 u amnionskoj tečnosti. Kod pacijentkinja koje su se porodile pre termina, kao i kod horioamnionitisa, bez obzira na starost trudnoće nađena je značajno viša koncentracija IL-16 u amnionskoj tečnosti.<sup>312</sup>

### **3.1.17. Interleukin-17.**

Interleukin-17 je citokin koga luče CD4<sup>+</sup>, i to uglavnom memorijske ćelije. Danas se zna da je on jedan od glavnih medijatora komunikacije T limfocita sa ćelijama kostne srži i da podržava hematopoetske procese.<sup>313</sup> Osim toga, IL-17 stimuliše produkciju IL-6, IL-8, PGE<sub>2</sub>, GCsF i GMCsF<sup>313</sup> i kao takav bi mogao da igra važnu ulogu u uspostavljanju i održavanju gravidarne imunoregulacije, ali ova mogućnost za sada nije dobro dokumentovana.

### **3.1.18. Interleukin-18**

IL-18 je jedan od faktora kontrole sinteze i sekrecije IFN-g. Osim stimulacije sekrecije IFN-g, IL-18 stimuliše sekreciju GMC-sF T i B limfocita, NK ćelija i makrofaga, inhibiše sekreciju IL-10 Th<sub>2</sub> limfocita i smanjuje ekspresiju receptora za IL-10.<sup>314,315</sup> Dokazano je da IL-18 odlaže apoptozu CTL i NK ćelija.<sup>316</sup>

IL-18 ima kompromitujuću ulogu u procesu uspostavljanja i održavanja gravidarne imunoregulacije. Poznato je da se serumska koncentracija IL-18 u trudnoći progresivno povećava sa napredovanjem trudnoće i da dostiže najviše vrednosti u vreme termina porođaja.<sup>317</sup> Horioamnionitis i prevremeni porođaj su takođe udruženi sa porastom nivoa IL-18 u serumu trudnica.<sup>317</sup>

### 3.1.19. Ostali citokini

#### 3.1.19.1. Interferoni (a, b, w i g)

Interferoni-a, b i w spadaju u tzv. tip I dok IFN-g spada u tip II interferona. IFN-a, b i w produkujru sve ćelije kao odgovor na virusnu infekciju i oni stimulišu ekspresiju MHC antigena klase I na svim somatskim ćelijama i na taj način ih čine uočljivijim za efektorne ćelije. Tip I interferona snažno stimuliše NK ćelije i makrofage, čime doprinosi opštem jačanju antivirusnog imuniteta.<sup>318,319</sup> Nasuprot interferonima tipa I, IFN-g pokazuje veoma slabu antivirusnu aktivnost. IFN-g sekretuju Th<sub>1</sub> limfociti, CTL, NK ćelije i makrofazi.

S obzirom da je IFN-w prvi put izolovan kao produkt kulture trofoblastnih ćelija, ovaj faktor je nazvan "trofoblastin".<sup>320</sup> Davanje trofoblastina posle nidacije rezultuje povećanjem procenta resorbovanih plodova.<sup>320,321</sup> Ovaj signal učestvuje u procesima odlaganja luteolize i transformaciji žutog tela u žuto telo trudnoće.<sup>322</sup> Trofoblastin ima važnu ulogu u inhibiciji leukocitne proliferacije i infiltracije periimplantacione zone endometrijuma.

IFN-g spada u najznačajnije i najaktivnije tzv. major citokine Th<sub>1</sub> grupe. Njegovi efekti su snažna stimulacija celularnog imuniteta i pojačana ekspresija MHC antigena na ciljnim ćelijama. Pojačana aktivnost IFN-g na posteljničnim tkivima znači dobru ekspresiju paternalnih MHC antigena, aktivaciju decidualnih CTL i NK ćelija i odbacivanje posteljice kao alotransplantata. Iako veoma uprošćen, opisani sled događaja je najverovatniji mehanizam snažnog abortogenog efekta IFN-g.

Za vreme normalne trudnoće produkcija IFN-g je značajno smanjena i najsuprimiranija je u decidualnoj populaciji imunokompetentnih ćelija. Supresija produkcije IFN-g počinje sa samom trudnoćom, pojačava se u prvom i drugom trimestru, da bi u poslednjem trimestru, a naročito oko termina porođaja bila najizraženija.

#### 3.1.19.2. Faktor tumorske nekroze (TNF)

Između 1960. i 1975.god. definitivno je potvrđeno da bakterijama stimulisane imunokompetentne ćelije luče faktor koji je citotoksičan za tumorske ćelije.<sup>323</sup>

TNF- $\alpha$  luči veliki broj ćelija kao što su makrofazi, CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> limfociti, adipociti, keratinociti, astrociti, osteblasti, neuroni, dendritične ćelije itd.<sup>324</sup> TNF- $\alpha$  spada u major citokine Th<sub>1</sub> grupe, zbog višestrukih i veoma intenzivnih promena koje uslovljava na imunokompetentnim ćelijama. Kao i IL-1, TNF- $\alpha$  povećava nivo sinteze i sekrecije autokrinih faktora rasta, kao i osetljivost imunih ćelija na ove faktore. TNF- $\alpha$  je svrstan u proinflamatorne citokine, uglavnom zbog svoje uloge u akutnoj fazi inflamacije.<sup>325</sup> Ovaj

citokin veoma snažno mobilise neutrofilne leukocite, povećava produkciju i sekreciju antitela i komplementa, povećava adhezivnost trombocita za zid krvnih sudova i stimuliše ekstravazaciju limfocita i makrofaga. Svi ovi efekti imaju za posledicu pojavu lokalne zapaljenjske reakcije. Na sistemskom nivou TNF-a ima uglavnom negativne efekte, kao što su pojava sistemskog edema, hipoproteinemije i neutropenije.<sup>325,326</sup>

TNF- $\beta$  je izoforma TNF i za razliku od TNF- $\alpha$  izlučuje ga manji broj ćelija kao što su NK ćelije, CTL i B limfociti.<sup>326,327</sup> Efekti TNF- $\beta$  uglavnom se očitavaju kao stimulacija terminalne faze diferencijacije mnogih, uglavnom hematopoetskih ćelijskih linija i stimulacija apoptoze.<sup>300,326,327,328</sup>

Kada je u pitanju odnos trudnoće i TNF-a, najpre bi se moglo govoriti o ulozi TNF u mehanizmima pobačaja, resorpcije posteljice i embriona, PIH sindromu i drugim kliničkim entitetima vezanim za patologiju trudnoće. S obzirom da spada u citokine Th<sub>1</sub> grupe sa izraženim osobinama apoptotičkog medijatora, svaka povećana aktivnost TNF u trudnoći vodi teškom kompromitovanju gravidarne imunoregulacije i dovodi u pitanje dalju sudbinu trudnoće. Nepovoljan uticaj TNF-a na trudnoću se dovodi u vezu sa činjenicom da je TNF naročito aktivan u pogledu aktivacije apoptotičkih mehanizama na proliferativnim tkivima, između ostalog i trofoblastnom tkivu.<sup>329,330</sup> Verovatno iz ovih razloga, sinteza i sekrecija TNF u normalnoj trudnoći je jako niska.

Faktori koji doprinose većoj aktivnosti Th<sub>1</sub> citokina i kompromitovanju daljeg toka trudnoće su mnogobrojni, a najčešće se pominju infekcija, disregulacija gravidarne imunoregulacije i slaba ekspresija HLA-G.

Preeklampsija i PIH sindrom su stanja koja se karakterišu povećanom decidualnom produkcijom TNF- $\alpha$  i značajno većom aktivnošću decidualnih NK ćelija, što se u novijoj literaturi objašnjava smanjenom ekspresijom membranskih HLA-G na trofoblastnim ćelijama.<sup>331</sup> Fenomen "plitke placentacije" kod preeklampsije i PIH sindroma se takođe dovodi u vezu sa pojačanom aktivnošću NK ćelija i značajno većim prisustvom TNF- $\alpha$  u zoni decidualno-trofoblastnog spoja. Osim antiproliferativnog dejstva NK ćelija i TNF-a na invadirajući trofoblast, TNF- $\alpha$  utiče na abnormalnu ekspresiju adhezionih receptora (integrina) na trofoblastnim ćelijama, što dodatno kompromituje placentaciju. U tom smislu postoje pretpostavke o mehanizmima abrupcije posteljice, gde TNF- $\alpha$  i abnormalna ekspresija integrina na ćelijama posteljičnih tkiva imaju centralnu ulogu.<sup>330</sup> Stanja poput horioamnionitisa su praćena skokom koncentracija proinflamatornih citokina, a naročito TNF-a, u serumu fetusa i trudnice, plodovoj vodi i plodovim ovojima.<sup>263</sup>

Iako je literatura puna podataka o negativnom uticaju TNF na trudnoću, postoje svedočenja o neophodnosti prisustva TNF-a signala za diferencijaciju trofoblasta.<sup>329</sup> Male koncentracije TNF-a nemaju apoptotičke efekte na rani trofoblast i uglavnom ubrzavaju i usmeravaju njegovu diferencijaciju. Veće koncentracije TNF-a, a naročito u prisustvu ostalih proinflamatornih citokina imaju snažno apoptotičko dejstvo na posteljica tkiva.<sup>329,332</sup>

### **3.1.19.3. Inhibitorni faktor leukemije (LIF)**

LIF je citokin koji veoma efikasno inhibiše proliferaciju mišje mijeloidne leukemije M1, uglavnom mehanizmima ubrzane diferencijacije leukemijskih ćelija.<sup>333</sup> Po svojim biološkim karakteristikama veoma je blizak IL-6, te pripada porodici IL-6 citokina.<sup>333,334</sup> Osim podsticanja diferencijacije, jedan od najznačajnijih efekata koje LIF pokazuje je promocija dugovečnosti ćelija, tako da ga mnogi autori smatraju neselektivnim i univerzalnim antiapoptotičkim faktorom.<sup>334</sup>

LIF ima ključnu ulogu u procesu nidacije blastociste.<sup>210</sup> Ovo ukazuje na činjenicu da je za implantaciju neophodna endometrijalna produkcija LIF-a koja je najverovatnije posledica signala iz semene tečnosti i kasnije iz same blastociste u obliku TGF- $\beta_2$  i PGE $_2$ .<sup>335</sup>

Broj receptora za LIF na ćelijama ranog konceptusa raste sa napredovanjem trudnoće, dok sam LIF nije moguće dokazati u bilo kom stadijumu embrionalnog razvoja.<sup>334,336</sup> Trofoblast takođe dobro eksprimira LIFR i pretpostavlja se da je LIF jedan od signala neophodnih za pravilnu trofoblastnu proliferaciju i diferencijaciju.<sup>336,337</sup>

Kakva je uloga LIF-a u reproduktivnim zbivanjima kod ljudi nije u potpunosti jasno, ali postoje dokazi da ovaj citokin igra važnu ulogu u periimplantacionim događanjima.<sup>334,337</sup> Činjenica da je LIF aktivnost endometrijuma najveća u sekretornoj fazi ciklusa, navela je mnoge istraživače na pomisao da progesteron kontroliše endometrijalnu sekreciju LIF-a.<sup>337</sup> Međutim, Arici i sar.<sup>338</sup> nisu uspeli da dokažu bilo kakve efekte estradiola i progesterona na nivo LIF mRNA u kulturi endometrijalnih ćelija, a uz to su demonstrirali da citokini kao što su IL-1, TNF- $\alpha$  i TGF- $\beta$ , imaju presudnu ulogu u kontroli endometrijalne LIF aktivnosti.<sup>338</sup>

### **3.1.19.4. Faktor transformacije rasta (TGF)**

Jedan od prvih faktora koji je klasifikovan u Th $_3$  grupu citokina je TGF. Danas je poznato više izoformi ovog faktora i to: TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta_1$ , TGF- $\beta_2$  i TGF- $\beta_3$ .<sup>339</sup> Sve izoforme TGF i TGF $R$  su dokazane na trofoblastnim tkivima i decidualnim ćelijama.<sup>339,340</sup>

Ćelije koje proizvode TGF- $\beta$  su CD56<sup>+</sup>, CD16<sup>-</sup>, CD3<sup>-</sup> limfociti,<sup>341</sup> ćelije endometrijuma, miometrijuma i trofoblasta. Najznačajnije količine decidualnog TGF- $\beta$  dolaze iz pula stimuliranih gdT ćelija koje se u značajnom broju mogu identifikovati u ranoj i kasnoj decidui.<sup>342</sup>

TGF- $\beta$  pokazuje više važnih bioloških efekata kao što je kontrola ćelijskog rasta, diferencijacija i migracija ćelija, produkcija intercelularnog matriksa, angiogeneza, stimulacija sekrecije prostaglandina i imunoregulacija. TGF- $\beta$  je faktor koji potpomaže nidaciju i kontroliše invaziju trofoblasta.<sup>343</sup>

Poznato je da TGF- $\beta$  značajno usporava odbacivanje alotransplantata jer vrši supresiju produkcije citokina kao što su IL-1b, IFN-g, IL-2, TNF- $\alpha$  i TNF- $\beta$ .<sup>343,344</sup> Imunomodulatorna uloga TGF- $\beta$  je danas potvrđena i preciznije definisana. Ovaj citokin je faktor diferencijacije Th prekursora u smeru Th<sub>2</sub> i Th<sub>3</sub> limfocita, faktor promocije Th<sub>2</sub> odgovora kao i faktor stimulacije sekrecije većine Th<sub>2</sub> citokina. U isto vreme TGF- $\beta$  suprimira aktivnost Th<sub>1</sub> limfocita i smanjuje sekreciju Th<sub>1</sub> citokina.<sup>343,345</sup> Progesteron se pominje kao jedan od faktora kontrole Th<sub>3</sub> ćelijske produkcije TGF- $\beta$ <sub>2</sub>.<sup>346</sup>

U novijoj literaturi sve je aktuelniji neklasični pristup odnosa citokinske aktivnosti i preeklampsije koji potvrđuje povećanu aktivnost antiinflamatornih/imunosupresivnih citokina u trudnoćama kompromitovanim preeklampsijom.<sup>345</sup> Međutim, nisu sve trudnoće komplikovane PIH sindromom praćene porastom IL-10 i TGF- $\beta$ <sub>1</sub>.<sup>346</sup> Istraživanja su pokazala da je skok serumskih koncentracija IL-10 i TGF- $\beta$ <sub>1</sub> u PIH sindromu dobar prognostički znak da će se trudnoća završiti uspešno i sa minimalnim intrauterinim zastojem u rastu fetusa. Nasuprot ovome, PIH sindrom koji nije udružen sa porastom serumskih vrednosti IL-10 i TGF- $\beta$ <sub>1</sub> ima veoma lošu prognozu. Ređi slučajevi PIH sindroma koji su udruženi sa porastom samo jednog od navedenih citokina pokazali su da je TGF- $\beta$ <sub>1</sub> validniji prognostički parametar od IL-10, što ukazuje na njegov veći protektivni značaj u slučajevima trudnoća ugroženih PIH sindromom.<sup>345,346</sup>

### 3.2. CITOKINI U INFLAMATORNOJ REAKCIJI

Zapaljenjski odgovor imunog sistema sastoji se iz četiri faze. Faza inicijacije, faza privlačenja imunokompetentnih ćelija, faza imunomodulacije i na kraju faza inhibicije. Pod uticajem biološkog, fizičkog ili hemijskog agensa, ostećene ćelije luče citokine IL-1 i TNF- $\alpha$

koji imaju pirogeno dejstvo, aktiviraju endotelne ćelije i angiogenetske procese, posreduju u razvijanju šoka, stimulišu proliferaciju fibroblasta, aktiviraju COX-2 čime podstiču sintezu prostaglandina i posreduju u hemotaksi imunih ćelija.

Jedna od ključnih uloga IL-1 i TNF- $\alpha$  je stimulacija sinteze i sekrecije hemoatraktanasa ili tzv. malih citokina nazvanih C-X-C i C-C hemokini. U ovom procesu učestvuju IL-10 i mnogi drugi molekuli sposobni da privuku i aktiviraju neutrofilne leukocite. Sinteza i sekrecija svih hemoatraktanata i aktivatora monocita, makrofaga, granulocita i limfocita se događa veoma brzo nakon pojavljivanja IL-1 i TNF- $\alpha$  u koncentracijama koje su veće od fizioloških. Sva navedena molekularna događanja se u početku odvijaju u određenoj mikrosredini koja ne zahvata veliki broj ćelija, da bi se konačna reakcija završila kao fokalna uz mogućnost generalizovanja.

Nekoliko sati posle početka inflamatorne reakcije počinje sekrecija imunomodulatornog citokina IL-6. IL-6 deluje kao faktor rasta u odnosu na B limfocite, stimuliše sintezu i sekreciju antitela i aktivira T limfocite. Ovo je faza imunomodulacije, odnosno faza koja prethodi smirivanju zapaljenjske reakcije. Trajanje imunomodulatorne faze i njeni konačni efekti zavise od samih faktora inicijacije inflamatorne reakcije. Završni efekti imunomodulatorne faze su smirivanje reakcije i imunosupresija aktiviranih ćelija.

Poslednja, imunosupresivna faza zapaljenjske reakcije posredovana je citokinima IL-10, IL-4 i TGF- $\beta$ . IL-10 je citokin koji inhibiše sintezu i sekreciju svih citokina i na taj način doprinosi smirivanju zapaljenjske reakcije. IL-4 i TGF- $\beta$  imaju imunosupresivne efekte na T i B limfocite, kao i stimulatorne efekte na proces fibroze postzapaljenjskog fokusa .

Prikazana šema zapaljenjske reakcije mogla bi važiti samo za slučaj akutnog zapaljenja i efikasne akcije imunog sistema kada je inicijator zapaljenja eliminisan. U slučajevima hronične zapaljenjske reakcije dolazi do preplitanja i istovremenog odvijanja sve četiri faze. Zbog istovremenog prisustva faktora inicijacije, imunomodulacije i imunosupresije, hronična zapaljenja imaju znatno blažu simptomatologiju od akutnih. Uz činjenicu da hronična zapaljenjska žarišta ujedno predstavljaju i mesta ekstratimusne limfocitne maturacije, istovremeno prisustvo imunomodulatornih/ imunosupresivnih faktora i antigena, generisanje imunokompetentnih ćelija tolerantnih na antigen predstavlja sasvim realnu mogućnost. U isto vreme postoji mogućnost generisanja self-reaktivnih imunokompetentnih ćelija koje bi mogle predstavljati izvor autoimunskih reakcija.

### 3.3. ULOGA CITOKINA U PREVREMENOM POROĐAJU

10% do 30% pretermijskih porođaja (PP) može biti uzrokovano infektivnim agensima. Prema nekim autorima ovaj procenat je znatno viši i kreće se između 70% i 90%. Infektivni agensi odgovorni za PP mogu biti klinički manifestne infekcije ili infekcije sa subkliničkim tokom. Kao glavni medijatori inicijacije PP sa velikim stepenom sigurnosti navode se prostaglandini. Kaskada aktivacije COX-2 i povećane sinteze prostaglandina je povezana sa citokinskim odgovorom na novonastali, hronični ili egzacerbirajući infektivni agens. Romero i sar. su potvrdili da je pojačana sinteza i sekrecija decidualnih prostaglandina posredovana povećanom aktivnošću IL-1 i IL-6, mada i TNF- $\alpha$  u ovom slučaju može imati veliku ulogu.

#### 3.3.1 Faza inicijacije

IL-1 i TNF- $\alpha$  su dva citokina koja se najčešće mogu dokazati u povećanim koncentracijama u plodovoj vodi kod PP. Koncentracija IL-1b u plodovoj vodi je u jakoj korelaciji sa koncentracijom prostaglandina i pozitivnom kulturom amnionske tečnosti. Za vreme PP i pod uticajem horioamnionitisa, koncentracija IL-1R značajno se povećava i u serumu ploda. Potencijalni izvor IL-1R predstavlja amnion, horion i decidua kao najznačajniji izvor. Dok IL-1 snažno stimuliše sintezu i sekreciju PGE-2 u plodovim ovojkama, posteljici i decidui, solubilni IL-1R inhibiše sekreciju prostaglandina, najverovatnije mehanizmom neutralizacije IL-1.

Koncentracija TNF- $\alpha$  je takođe povećana u amnionskoj tečnosti trudnica sa PP i pozitivnom bakterijskom kulturom plodove vode. Povećana koncentracija solubilnih receptora za TNF- $\alpha$  je dokazana u serumu trudnica, plodovoj vodi i serumu ploda u svim slučajevima PPRM-a i pozitivne kulture amnionske tečnosti.

U prvom trimestru trudnoće decidualni makrofazi i NK ćelije su glavni izvori ovog citokina. Casey i sar. su dokazali da humana decidua rane trudnoće može biti stimulisana LPS-om na izlučivanje značajnih količina TNF- $\alpha$ . U terminskoj trudnoći pored imunih ćelija, TNF- $\alpha$  izlučuju same decidualne ćelije, kao i trofoblastne ćelije. Fetalne membrane takođe mogu biti uključene u njegovu sekreciju. Dok se u normalnoj trudnoći sekretuju samo bazalne vrednosti ovog citokina koji ima ulogu u fiziološkim, apoptotičkim procesima nidacije, placentacije, trofoblastne invazije, cervikalne dilatacije i sl, u uslovima infekcije ili eksperimentalne stimulacije decidualno-trofoblastnog kompleksa LPS-om, sekretuju se značajno veće količine TNF- $\alpha$ .

Mehanizmi pobačaja i PP usko su povezani sa zapaljenjskom kaskadom koju iniciraju mikroorganizmi. TNF- $\alpha$  i IL-1 se u ovom mehanizmu pojavljuju kao glavni medijatori sinteze i sekrecije prostaglandina, kao neposrednih faktora kontrole cervikalne dilatacije i materičnih kontrakcija.

### **3.3.2. Faza imunomodulacije**

IL-8 i IL-6 su citokini čija je aktivnost takođe povećana u uslovima PP. Romero i sar. su prvi pokazali da je koncentracija IL-8 u plodovoj vodi trudnoća koje su se završile pre termina značajno povišena i da koreliše sa prisustvom i intenzitetom horioamnionitisa. Kasnije se pokazalo da se koncentracija ovog citokina u plodovoj vodi povećava i u toku terminskog porođaja, što potvrđuje njegovu fiziološku ulogu u mehanizmima porođaja. Puchner i sar. su potvrdili da je povišena koncentracija IL-8 u plodovoj vodi najsenzitivniji parametar prisustva horioamnionitisa i pretećeg prevremenog porođaja. Trofoblastna sekrecija IL-8 je konstantna, bez obzira na starost trudnoće. Porođajni mehanizmi takođe ne utiču na nivo trofoblastne sekrecije IL-8, ali u prisustvu horioamnionitisa trofoblast sekretuje višestruko veće vrednosti ovog citokina. U serumu fetusa i trudnice koncentracija IL-8 je takođe povišena u uslovima horioamnionitisa i predstavlja senzitivniji parametar zapaljenja od C-reaktivnog proteina.

MIP je još jedan citokin koji ima važnu ulogu u fazi imunomodulacije. Koncentracija MIP-a u plodovoj vodi, serumu fetusa i trudnice takođe je u korelaciji sa prisustvom i stepenom horioamnionitisa, kao i sa koncentracijom IL-8 i PP.

Glavni izvori imunomodulatornih citokina su decidua, trofoblast i horionska membrana. Progesteron snažno inhibiše sekreciju ovih, kao i proinflamatornih citokina, dok proinflamatorni citokini TNF- $\alpha$  i IL-1b stimulišu sintezu i sekreciju imunomodulatornih citokina i hemoatraktanasa. Takođe se zna da je stimulacija sekrecije IL-8, IL-6 i MIP od strane TNF- $\alpha$  i IL-1b dozna zavisna.

Među najbolje proučenim citokinima i njihovoj ulozi u PP sigurno spada IL-6 koji je jedan od najsenzitivnijih citokina kada je u pitanju horioamnionitis. Povišena koncentracija IL-6 u amnijskoj tečnosti i serumu fetusa je bolji indikator horioamnionitisa od klasičnih parametara kao što su rezultati bakterijske kulture, koncentracija glukoze u plodovoj vodi, temperatura i broj leukocita trudnice. Murtha i sar. su dokazali da koncentracija IL-6 u serumu trudnice značajno raste najmanje 24h pre prevremenog pucanja plodovih ovoja koje je prouzrokovano horioamnionitisom. Lencki i sar. su našli da je koncentracija IL-6 u serumu



fetusa takođe značajno povišena u situacijama prevremenog prsnuća plodovih ovoja i prevremenog porođaja.

Koncentracija IL-6 u cervikalnom sekretu je takođe povećana u situacijama pretećeg prevremenog porođaja. Koncentracije IL-6 koje su veće od 410pg/mL u cervikalnom sekretu sa velikim stepenom sigurnosti (91%) mogu najaviti brz prevremeni porođaj.

Razmatrajući ove podatke može se reći da su mehanizmi aktivacije citokinske mreže u pretermijskom i termijskom porođaju skoro identični i da suštinska razlika nije toliko sadržana u kvalitetu citokinske mreže, već u vremenu njenog aktiviranja.

### **3.4. CITOKINI I NEONATALNA OBOLJENJA**

Dosadašnji raspoloživi podaci ukazuju na povezanost između fetalnog/neonatalnog inflamatornog odgovora i neonatalnog (neuro)morbiditeta. Neka oboljenja novorođenčeta kao što su sepsa, CLD/BPD i NEC karakteriše prisustvo inflamacije. Prema definiciji, inflamatorni odgovor je zaštitni odgovor na infekciju i oštećenje i posredovan je pro-inflamatornim citokinima, glikoproteinima niske molekularne težine, koje predominantno proizvode monociti i makrofagi na mestu inflamacije.

Proinflamatorni citokini (IL-1, IL-18, IFN, TNF) su primarno odgovorni za inicijaciju efikasne odbrane (akutna faza odgovora) od egzogenih patogena, dok su antiinflamatorni citokini (IL-4, IL-10) uključeni u smirivanje inflamatornog procesa i održavanje homeostaze za adekvatno funkcionisanje vitalnih organa.<sup>347</sup>

#### **3.4.1. Sindrom fetalnog inflamatornog odgovora**

Mikrobijalna invazija uterusne šupljine rezultuje fetalnim sistemskim citokinskim inflamatornim odgovorom putem aspiracije, otitisa, konjunktivitisa ili omfalitisa.<sup>348</sup> Međutim, samo mali procenat ovih žena ima pozitivnu kulturu amnionske tečnosti.<sup>349</sup> Prema tome, intraamnijska inflamacija bi mogla biti bolji prediktor iminentnog prevremenog porođaja od intraamnijske infekcije.<sup>350</sup> Aktivno učešće fetusa u sistemskom antenatalnom inflamatornom odgovoru utvrđeno je korišćenjem tehnike kordocenteze. U stvari, FIRS je originalno definisan porastom nivoa IL-6 u krvi pupčanika.<sup>351</sup> Mnoge druge studije otkrivaju da FIRS uključuje sinergističku akciju različitih citokina i nekoliko kompleksnih mehanizama odbrane

domaćina.<sup>352</sup> Zahvaljujući brojnim studijama danas znamo da FIRs, pre nego maternalna infekcija, uzrokuje multiorganska oštećenja fetusa.<sup>353</sup>

#### **3.4.1.1. Fetalna neurotoksičnost**

Fetalni mozak je široko ispitan u kontekstu intrauterine inflamacije.<sup>354</sup> Funizitis i hronični horioamnionitis udruženi su sa povećanim rizikom za nastanak intraventrikularne hemoragije (IVH).<sup>355</sup> Histopatološka ispitivanja mozga pokazuju prekomernu ekspresiju TNF- $\alpha$  u mikroglijalnim ćelijama na području periventrikularne leukomalacije sa višom produkcijom citokina kod inficiranih neonatusa.<sup>356</sup> Međutim, jasna veza između intrauterine infekcije/inflamacije i neurološkog ishoda prevremeno rođenih neonatusa nije potvrđena u svim studijama.

Pretpostavljeni mehanizam neurotoksičnosti proinflamatornih citokina podrazumeva: 1) direktan citolitički efekat na neurone bilo da se radi o in situ produkciji citokina ili o sistemskim citokinima koji prelaze krvno-moždanu barijeru, 2) indukciju oslobađanja ekscitatorne amino-kiseline (glutamata), 3) abnormalnosti u koagulacijskoj kaskadi ili 4) fetalnu hipotenziju<sup>356,357,358</sup> Dalje razjašnjenje ovih mehanizama povećaće verovatnoću uspešnih terapijskih postupaka.

Mnoge studije koncentrišu se na interakciju produkcije citokina i oslobađanja ekscitatorne aminokiseline (glutamata). Antenatalni, inflamacijom uslovljen insult CNS-a uključuje infekciju (oslobađanje proinflamatornih citokina) i hipoksiju-ishemiju (prekomerno oslobađanje ekscitatornog neurotransmitera). Interakcija ova dva entiteta je kompleksna. Prvo, oštećenje mozga tokom antenatalne infekcije može biti zbog citokinemije (citokini prolaze hematoencefalnu barijeru) ili zbog prekida placentnog protoka krvi što rezultuje asfiksijom.<sup>357</sup> Drugo, administracija niskih doza bakterijskog endotoksina (LPS) dramatično senzitivise imaturni mozak na oštećenje i indukuje cerebralne infarkte u odgovoru na kratke epizode hipoksije-ishemije koje same po sebi ne bi ili bi uzrokovale mala oštećenja.<sup>359</sup> Treće, povišen nivo IL-1 i TNF i neutrofilna invazija infarceriranih područja prate hipoksiju-ishemiju i u odsustvu infekcije.<sup>359,360</sup> Četvrto, postoji kompleksna interakcija između inflamacije i ekscitotoksičnosti. Na primer, IL-1 potvrđuje ekscitotoksično oštećenje mozga in vivo, dok smanjuje odumiranje neurona in vitro.<sup>361</sup> Konačno, kompleksna interakcija između hipoksije-ishemije i inflamacije reflektuje se i u neuropatologiji oštećenja bele mase kod neonatusa majki sa horioamnionitisom.<sup>362</sup> Citokini mogu biti neurotoksični putem procesa "senzitivizacije" imaturnog mozga smanjujući prag pri kome hipoksično-ishemični insult izaziva oštećenje.<sup>363</sup>

### **3.4.1.2. Drugi fetalni morbiditet**

Fetalna izloženost infekciji/inflamaciji može sa jedne strane rezultirati maturacijom fetalnih pluća. Međutim, antenatalni horioamnionitis može pripremiti fetalna pluća da odgovore drugačije na postnatalna zbivanja, povećavajući rizik za CLD/BPD.<sup>364</sup> Histološki horioamnionitis je udružen sa приметnom redukcijom volumena i kortikomedularne diferencijacije timusa, redukcijom broja timocita i infiltracijom makrofaga u parenhimu.<sup>365</sup>

## **3.4.2. Neonatalni inflamatorni odgovor**

### **3.4.2.1. Sepsa**

Kod neonatusa majki sa akutnim horioamnionitisom retko se viđa progresija do septičkog šoka u neposrednom neonatalnom periodu. Međutim, postoji signifikantna udruženost funizitisa i kongenitalne sepse.<sup>366</sup> Neonatalna sepsa u odsustvu horioamnionitisa predominantno je posredovana IL-1, IL-6 i TNF- $\alpha$ . Mortalitet uzrokovan sepsom korelira sa multiplim oštećenjima organa uzrokovanim nekontrolisanom inflamacijom, imunodeficijencijom (prolongirana neutropenija, limfopenija, hipogamaglobulinemija) i oštećenjem endotela sa trombotičnom mikroangiopatijom. Malo se zna o profilu pro i antiinflamatornih citokina kod septičnih, preterminskih neonatusa kod kojih se imuni sistem može smatrati nezrelim. Preteran proinflamatorni odgovor sa neadekvatnom antiinflamatornom kompenzacijom može rezultovati lošim kliničkim ishodom. Perzistentno visoke koncentracije IL-10 mogu biti rani indikator loše prognoze preterminskih neonatusa sa sepsom.<sup>367</sup>

### **3.4.2.2. Nekrotizujući enterokolitis**

Nekrotizujući enterokolitis je intestinalna bolest koja primarno nastaje kod prematurusa niske porođajne težine. Njena etiologija još uvek nije dobro poznata i mogu je činiti intestinalna nezrelost, intestinalna ishemija, promene mikrobiološke sredine sa rastućim inflamatornim odgovorom kao zajedničkim mehanizmom. Podaci koji ukazuju na kauzalnu povezanost horioamnionitisa i NEC su veoma retki, mada neke restrospektivne studije pokazuju signifikantno češću pojavu PPRM-a i horioamnionitisa kod neonatusa sa NEC.<sup>368</sup>

Inflamatorni medijatori uključeni u NEC su tkivni i cirkulišući proinflamatorni citokini (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , faktor aktivacije trombocita (PAF), leukotrien C4, NOS, endotelin-1 (ET-1) i tromboksan. Veruje se da ovi medijatori stimulišu gensku transkripciju

vodeći apoptozi ili ćelijskoj smrti, sekundarnoj inflamaciji, povećanju permeabilnosti ćelijskog zida i konačno nekrozi.

Suprotno, IL-10, IL-11, IL-12, eritropoetin i epidermalni faktor rasta (EGF) izgleda imaju važnu ulogu u prevenciji intestinalnog oštećenja. Protektivni efekat majčinog mleka ogleda se u porastu ilealne produkcije antiinflamatornog IL-10.<sup>369</sup> Takođe crevni organizmi, kao što je nevirulentna Salmonella, sposobni su da umanje intestinalni inflamatorni odgovor.<sup>370</sup>

### **3.4.2.3. Hronična plućna bolest (CLD)/Bronhopulmonarna displazija (BPD)**

Mnogi aspekti inflamatornog odgovora u kontekstu CLD/BPD ostaju da budu rasvetljeni. Sa jedne strane, arteficiono indukovana plućna inflamacija intraamnijskom injekcijom proinflamatornih citokina kod zečeva rezultira porastom plućnog volumena, povećanjem produkcije surfaktanta i poboljšanjem razmene gasova.<sup>371</sup> Isto tako, fetalna izloženost horioamnionitisu može dovesti do povećanja plućne maturacije, identično efektu dobijenom antenatalnim glukokortikoidima.<sup>364</sup> Ovo je u skladu sa rezultatima UK Epicure studije gde neonatusi rođeni pre 26. nedelje češće umiru u odsustvu horioamnionitisa ili antenatalne administracije glukokortikoida.<sup>372</sup>

Međutim, antenatalna inflamacija može prekinuti proces alveolarizacije, čineći fetalna pluća vulnerabilnim za postnatalna oštećenja.<sup>373</sup> Zaista, prolongirana postnatalna mehanička ventilacija pluća (>7 dana), koja je primarna u ovom slučaju, zajedno sa postnatalnom infekcijom (sepsa, pneumonija) može rezultovati sekundarnim inflamatornim odgovorom i razvojem CLD/BPD.<sup>374,375</sup> Podrška ovoj hipotezi proizilazi iz činjenice da su posmatranjem tečnosti dobijene bronhoalveolarnom lavažom kod ventiliranih i antenatalno inflamiranih animalnih pluća dominantno nađeni limfociti i monociti.<sup>376</sup>

Oštećenje pluća kod prematurusa može biti uzrokovano i poremećajem "down" regulacije inflamatornog odgovora.<sup>377</sup> Podaci pokazuju da prematurusi sa plućnom inflamacijom mogu biti nesposobni da aktiviraju antiinflamatorne citokine (IL-10). Upoređujući prematuruse sa terminskim neonatusima, sposobnost plućnih makrofaga da produkuju TNF- $\alpha$  je skoro identična, dok trend prema smanjenju nivoa ekspresije IL-10 postoji u grupi prematurusa.<sup>378</sup> Ovi podaci ukazuju da je disbalans između pro i antiinflamatornog odgovora taj koji vodi ka CLD/BPD. Uloga faktora transformacije rasta (TGF), citokina koji učestvuje u adultnoj hroničnoj inflamatornoj bolesti, u neonatalnim inflamatornim procesima ostaje da bude rasvetljena.<sup>379</sup>

#### **3.4.2.4. Retinopatija zbog prematuriteta (ROP)**

ROP je ishemijskom indukovana proliferativna retinopatija koja se javlja kod prematurusa niske porođajne težine. Proces retinalne neovaskularizacije u ROP-u je kompleksan i uključuje nekoliko faktora angiogeneze kao što je npr. vaskularni endotelijalni faktor rasta. Potencijalna terapija ROP-a ne uključuje samo modulatore faktora angiogeneze već i endogene inhibitore i antiinflamatorne lekove. Ovi poslednji lekovi pokazali su se efikasnim kod kiseonikom indukovane retinopatije kod nekoliko animalnih modela, a aktuelno se vrše ispitivanja kod adultne dijabetične retinopatije i starošću uslovljene makularne degeneracije.<sup>380</sup>

#### **3.4.3. Perinatalni inflamatorni odgovor, neonatalna oboljenja i neuromorbiditet**

##### **3.4.3.1. Vreme nastanka**

Klinički horioamnionitis bazira se na prisustvu dva ili više sledećih kliničkih znakova: maternalna febrilnost, maternalna tahikardija, fetalna tahikardija, maternalna leukocitoza, razmekšanje uterusa i zaudarajuća plodova voda. Međutim, intrauterina infekcija može ostati neprepoznata mesecima kao hroničan, indolentan inflamatorni proces. Dakle, u odsustvu jasnih kriterijuma za identifikaciju težine i trajanja intrauterine infekcije, nije iznenađujuće da je klinički ishod nepredvidiv u opsegu od normalnog fetalnog razvoja sa histološkim horioamnionitisom kao incidentnim nalazom, do teškog horioamnionitisa koji dovodi do smrti in ili ex utero ili do dugoročnih neuroloških sekvela.<sup>364</sup>

##### **3.4.3.2. Tip i prisustvo patogena**

Ne samo vreme već i priroda infekcije može determinisati perinatalni ishod.<sup>381</sup> Na primer, administracija niskih doza endotoksina *Escherichiae coli* pacovima pre kratkog perioda hipoksije-ishemije povećava globalno oštećenje mozga.<sup>359</sup> Međutim, suprotan efekat je primećen kod davanja drugog bakterijskog toksina na istom modelu pacova.<sup>382</sup> Amnionska tečnost kontaminirana *E. coli* ali ne i *Ureaplasma urealyticum* i *Mycoplasma* povećava rizik za nastanak CLD/BPD.<sup>383</sup> Podaci ukazuju da se prevremeni porođaj i neonatalni morbiditet bolje prediktuju stepenom i prirodom FIRS-a i infekcije nego prisustvom patogena (pozitivnom kulturom amnionske tečnosti).<sup>384</sup>

##### **3.4.3.3. Antiinsultne strategije**

Kako je perinatalna infekcija/inflamacija važan faktor rizika za loš neonatalni ishod, razvoj adekvatno dizajniranih, (neuro)protektivnih strategija biće neophodan deo neonatalne

brige i zaštite u sledećoj dekadi.<sup>385</sup> Dosadašnje teškoće uključuju sledeće: 1) još uvek nismo u mogućnosti da prospektivno identifikujemo fetuse sa najvećim rizikom razvoja neuromorbiditeta, 2) prisustvo korisnih i štetnih fizioloških efekata citokina komplikuje svaku ciljanu intervenciju, 3) veruje se da je poreklo perinatalnog oštećenja mozga multifaktorijalno uključujući hipoksiju/poremećaj perfuzije, deficijenciju tireoidnih hormona, genetičke faktore, trombotičke procese, deficijenciju faktora rasta, višak slobodnih radikala i antenatalnu infekciju.<sup>386</sup>

#### **3.4.3.4. Antenatalne strategije**

**Steroidi:** Endogeni glukokortikoidi oslobođeni iz fetalnog adrenalnog korteksa smanjuju ekspresiju i akciju citokina kako na periferiji tako i u mozgu.<sup>387</sup> Isto tako, antenatalna administracija egzogenih steroida može rezultirati redukcijom FIRS-a.<sup>388</sup> Antenatalno administrirani steroidi kod žena sa rizikom prevremenog porođaja smanjuju rizik smrti od respiratornog distresa<sup>389</sup> i štite infante veoma niske porođajne težine od neuromorbiditeta.<sup>390</sup> Međutim, antenatalni steroidi ne redukuju incidencu CLD/BPD jer indukuju alveolarnu simplifikaciju i stoga pripremaju pluća za postnatalno, ventilacijom uslovljeno oštećenje pluća. Znači betametazon proizvodi inicijalni supresivni efekat na inflamaciju, ali konačno može rezultirati “kasnom inflamacijom”.<sup>391</sup> Izgleda da ekspozicija infekciji/inflamaciji zajedno sa antenatalnom administracijom glukokortikoida može maturirati ali i oštetiti fetus.

**Antibiotici:** administracija antibiotika nakon PPRM-a rezultira signifikantnom redukcijom horioamnionitisa, odlaganjem porođaja i redukcijom neonatalnog morbiditeta (neonatalnih infekcija, abnormalnih intrakranijalnih ultrazvučnih nalaza), upotrebe surfaktanta i potrebe za kiseonikom.<sup>392</sup> Eritromicin se smatra dobrim izborom posebno zbog malog oslobađanja endotoksina tokom bakterijskog oštećenja.<sup>393</sup> Važeći tretman kliničkog horioamnionitisa je porođaj fetusa i sledstveni tretman antibioticima. Maternalni tretman je u takvim slučajevima neefikasan jer je amnionska šupljina u najvećoj meri izdvojena i nepristupačana za antibiotike.

**Način porođaja:** normalan porođaj je uvek udružen sa nekim formama hipoksičnog stresa koji može biti štetan ako je fetalni mozak vulnerabilniji za hipoksiju u prisustvu antenatalne infekcije/inflamacije. Međutim, ne postoje jasni podaci koji upućuju na to da je elektivni carski rez neuroprotektivniji od normalnog porođaja u slučaju hroničnog ili akutnog horioamnionitisa.

## 4. PREDIKCIJA PREVREMENOG POROĐAJA

**P**revremeni porođaj je vodeći uzrok neonatalnog mortaliteta širom sveta.<sup>395</sup> Nekoliko biohemijskih i biofizičkih markera predloženo je za identifikaciju pacijenata sa rizikom prevremenog porođaja i to kako asimptomatskih, tako i onih sa pretećim prevremenim porođajem, sa nadom da će sledstvena intervencija prevenirati prevremeni porođaj. Međutim, važeće intervencije kao što su tokoliza, serklaž i antibiotska terapija, pokazale su se neefikasnim u ovom pogledu jer su uglavnom usmerene na tretman simptoma, a ne uzroka prevremenog porođaja, a mehanizmi koji dovode do prevremenog porođaja su različiti.

U novije vreme razvijeni su mnogi sistemi procene rizika prevremenog porođaja. Najčešće se upotrebljava sistem koji je inaugurisao Robert Creasy 1980. godine. Ove predikcione sisteme treba razlikovati od tokolitičkog indeksa kojim se procenjuje aktuelni nalaz pre tokolitičke terapije i koji se uglavnom koristi u evaluaciji rezultata lečenja.

### 4.1. Cervikalna ultrasonografija u predikciji prevremenog porođaja

Cervikalna ultrasonografija je moćan metod za procenu rizika prevremenog porođaja. Kod pacijenata sa većom dužinom cerviksa mogućnost prevremenog porođaja je niska, te je izbegavanje agresivnih intervencija opravdano.<sup>396</sup>

Prevremeni porođaj je multifaktorijalne etiologije te su individualni skrining testovi limitirani u predikciji svih prevremenih porođaja.<sup>466</sup> Da bi se dokazala senzitivnost ultrazvučne cervikometrije predlaže se uvođenje scoring sistema kojim se ultrazvučni podaci kombinuju sa biohemijskim, hormonskim i molekularnim dijagnostičkim metodama (određivanje fetalne DNA u maternalnoj krvi).<sup>467,468</sup> Pozitivan fetalni fibronektin test ili porast koncentracije citokina u cervikovaginalnom sekretu povećavaju prediktivnu vrednost cervikalne ultrasonografije u identifikaciji pacijenata sa rizikom prevremenog porođaja.<sup>469,470,471,472</sup>

### 4.2. Fetalni fibronektin u vaginalnom sekretu i prevremeni porođaj

Fetalni fibronektin je glikoprotein koji se smatra glavnom komponentom ekstracelularnog matriksa horiodecidualnog spoja.<sup>397</sup> Pretpostavlja se da pozitivan fetalni fibronektin test u drugom i trećem trimestru trudnoće odražava separaciju horiona od

decidualnog ležišta sa oslobađanjem intaktnih ili degradiranih horionskih komponenti ekstracelularnog matriksa u cervikalni i vaginalni sekret.<sup>398</sup> Pozitivan fetalni fibronektin test u cervikalnom i /ili vaginalnom sekretu udružen je sa prevremenim porođajem kako kod pacijenata sa pretećim PP tako i kod asimptomatskih pacijenata.<sup>399,400,401,402</sup>

Konvencionalan stav je da je prisustvo fetalnog fibronektina u cervikalnom i vaginalnom sekretu pre 20. nedelje trudnoće posledica odsustva kompletne fuzije između fetalnih membrana i decidue.<sup>403</sup> Međutim, skoriji podaci upućuju na to da visoke koncentracije fetalnog fibronektina između 13. i 20. gestacijske nedelje predstavljaju faktor rizika za prevremeni porođaj.<sup>404</sup> Negativan fetalni fibronektin test identifikuje pacijente sa niskim rizikom za prevremeni porođaj, dok pozitivan test ima limitiranu pozitivnu prediktivnu vrednost.<sup>405</sup>

### **4.3. Bakterijska vaginoza i rizik prevremenog porođaja**

Bakterijska vaginoza, stanje koje karakteriše promena mikrobijalnog ekosistema vagine,<sup>406,407</sup> prisutna je u 15-20% trudnih žena<sup>408,409</sup> i predstavlja faktor rizika za spontani prevremeni porođaj,<sup>410,411,412,413,414</sup> PPRM<sup>415,416</sup> i postpartalni endometritis.<sup>417</sup> Promenu bakterijskog ekosistema karakteriše smanjenje broja laktobacila i prekomerni rast anaerobnih ili fakultativnih bakterija kao što su: *Mobiluncus species*, *Prevotella species*, *Gardnerella vaginalis* i genitalne mikoplazme: *Mycoplasma hominis* i *Ureaplasma urealyticum*.<sup>418</sup>

Konvencionalan stav je da bakterijska vaginoza nije udružena sa znacima inflamacije,<sup>419,420</sup> te se ovo stanje radije naziva vaginoza nego vaginitis.<sup>421</sup> Razlog odsustva lokalnog inflamatornog odgovora kod većine žena sa bakterijskom vaginozom ostaje da bude determinisan. Vaginalna mukoza je npr. sposobna da razvije inflamatorni odgovor kod infekcije *Trichomonas vaginalis*om i *Candidom species* koji uzrokuju intenzivnu inflamaciju koja se klinički manifestuje kao vaginitis.<sup>422,423</sup> Bakterijska vaginoza je asimptomatska kod oko 50% pacijenata.<sup>424,425</sup> Iako uzrok bakterijske vaginoze nije poznat, stanje se može shvatiti kao mikrobijalno/mukozno/imunološko oboljenje.

Klinički kriterijumi za dijagnozu bakterijske vaginoze (Amselovi kriterijumi) bazirani su na prisustvu najmanje tri od sledećih nalaza: 1) redak (tečan) homogen vaginalni sekret, 2) vaginalni PH >4,5, 3) pozitivan aminski test, 4) prisustvo "clue" ćelija.<sup>426</sup> Standardni metod za dijagnozu bakterijske vaginoze je ispitivanje vaginalnog sekreta bojenjem po Gramu.<sup>427</sup> Nugent, Khron i Hillier standardizovali su kriterijume za interpretaciju nalaza bojenih po Gramu na osnovu 4 bakterijska morfortipa.<sup>428</sup> Skor 7-10 smatra se dijagnozom bakterijske vaginoze. Međutim, oko 20% žena sa bakterijskom vaginozom prema Amselovim



kriterijumima ima Nugent skor 5 ili 6<sup>429</sup> pa se smatra da skor 4-10 prema Nugent-ovim kriterijumima može indikovati abnormalnu vaginalnu floru.<sup>429</sup> Bakterijska vaginoza je često udružena sa intraamnijalnom infekcijom<sup>430,431,432</sup> i predstavlja faktor rizika za prevremeni porođaj.<sup>433,434,435</sup> Međutim, randomizirana klinička ispitivanja daju konfliktne rezultate.<sup>436,437,438,439,440,441,442,443</sup>

#### **4.4. Kućni monitoring uterusnih kontrakcija i rizik prevremenog porođaja**

Pretpostavlja se da praćenje frekvence uterusnih kontrakcija može identifikovati kako simptomatske<sup>444</sup> tako i asimptomatske<sup>445,446</sup> pacijente sa rizikom za prevremeni porođaj sa obrazloženjem da porast frekvence uterusnih kontrakcija vodi prevremenom porođaju. Prema tome, rana detekcija i supresija uterusnih kontrakcija može potencijalno redukovati stopu prevremenih porođaja. Međutim, rezultati većeg broja randomiziranih kliničkih ispitivanja pokazuju da ambulantni uterini monitoring ne redukuje stopu prevremenih porođaja.<sup>447,448,449</sup> Senzitivniji metod za merenje uterusne aktivnosti je uterina elektromiografija,<sup>450</sup> neinvazivno praćenje uterinih električnih signala. Smatra se da uterina električna aktivnost raste 4 dana pre porođaja, te se može koristiti u njenoj predikciji.<sup>452</sup>

#### **4.5. Kortikotropni rilizing hormon (CRH) i rizik prevremenog porođaja**

Pre 10-15 godina McLean i Smith pretpostavili su postojanje placentnog sata ("placental clock") koji je aktivan od ranog stadijuma humane trudnoće i koji determiniše dužinu gestacije i vreme porođaja.<sup>452</sup> Pretpostavka je bazirana na rezultatima velike longitudinalne studije u kojoj su žene koje su rodile pre termina imale signifikantno više plazma koncentracije CRH u odnosu na one koje su rodile u terminu. Ova razlika je bila prisutna već između 16. i 18. nedelje gestacije.<sup>453</sup> Udruženost visokih maternalnih plazma koncentracija CRH i prevremenog porođaja potvrđena je i drugim studijama.<sup>454,455</sup>

Visoke plazma koncentracije CRH opisane su kod žena sa hroničnim stresom, te je ovo stanje udruženo sa povećanim rizikom za prevremeni porođaj.<sup>456</sup> Prema hipotezi placentnog sata, stopa porasta CRH u maternalnoj plazmi tokom trudnoće determiniše vreme porođaja i to onda kada je postignuta saturacija CRH nosećeg proteina, te slobodan CRH započinje porođaj.<sup>457</sup> Plazma koncentracije CRH u 26.ng > 90 pmol/L imaju senzitivnost od 45%, specifičnost od 94% i pozitivnu prediktivnu vrednost od 46.7% u predikciji prevremenog porođaja.<sup>458</sup> Na osnovu ovih rezultata sugerise se da maternalni plazma CRH može da identifikuje pacijente sa rizikom za prevremeni porođaj, ali ne može biti dobar skrining metod za prevremeni porođaj.<sup>459</sup>

#### **4.6. Salivarni estriol u predikciji prevremenog porođaja**

U longitudinalnoj studiji McGregora<sup>460</sup> merene su salivarne koncentracije estriola najmanje jednom nedeljno od 22. nedelje gestacije. Pacijentkinje koje su rodile pre 37. ng imale su više koncentracije salivarnog estriola od onih koje su rodile u terminu. Cut-off vrednost od 2.1 ng/ml imala je senzitivnost, specifičnost i pozitivnu i negativnu prediktivnu vrednost od 57%, 78%, 9% i 98% u predikciji prevremenog porođaja.<sup>461</sup> Ovo pokazuje da visoke koncentracije salivarnog estriola jesu faktor rizika za prevremeni porođaj ali nisu koristan skrining zbog niske pozitivne prediktivne vrednosti.

#### **4.7. Stvaranje trombina i rizik prevremenog porođaja**

Trombin ima centralnu ulogu u koagulacijskoj kaskadi katalizujući konverziju fibrinogena u fibrin i aktivirajući faktore koagulacije V i VIII.<sup>462</sup> Prirodni antikoagulantni mehanizmi limitiraju akciju trombina putem nosećeg antitrombina III koji gradi stabilan kompleks sa trombinom poznat kao TAT kompleks.<sup>463</sup> TAT koncentracije u plazmi smatrane su indeksom in vivo generacije trombina i aktivacije koagulacione kaskade.

Normalna trudnoća je stanje u kome postoji ekscesivno stvaranje trombina.<sup>463,464</sup> Žene sa prevremenim porođajem i intaktnim membranama kao i sa PPROM-om imaju signifikantno više srednje plazma koncentracije TAT kompleksa nego normalne trudne žene.<sup>465</sup> Ovo ukazuje da je prevremeni porođaj udružen sa ekscesivnom generacijom trombina koja može prethoditi kliničkoj manifestaciji prevremenog porođaja.

### **G**

Prevremeni porođaj predstavlja jedan od velikih obstetričkih sindroma.<sup>473,474</sup> Multiple je etiologije, hronočan po prirodi, često udružen sa fetalnim oboljenjem, a klinička manifestacija i majke i fetusa može biti adaptivne prirode i može zavistiti od interakcije gena i faktora sredine. Simptomatski tretman prevremenog porođaja još uvek je neefikasan.

Danas se smatra da takozvane “omics” nauke („genomics, transcriptomics, proteomics i metabolomics“) doprinose poboljšanju taksonomije sindroma prevremenog porođaja<sup>475,476,477</sup> One potencijalno mogu predstavljati bolji način za identifikaciju žena sa rizikom prevremenog porođaja, kao i vodič za planiranje intervencija usmerenih ne na simptome, već na razumevanje uzroka i mehanizma bolesti (interleukin-10 ili deksametazon za modulaciju intraamnijalne inflamacije).<sup>478</sup> Intervencije prilagođene mehanizmu bolesti i genetičkom profilu majke/fetusa, čini se, biće mnogo efikasnije u prevenciji prevremenog porođaja.

## **II**

# **CILJ ISTRAŽIVANJA**

- Determinisati frekvencu, kliničke karakteristike i značaj intraamnijalne inflamacije kod pacijenata sa prevremenim porođajem.

# III

## SUBJEKTI I METODE ISTRAŽIVANJA

Ispitivanje je obavljeno u Ginekološko-akušerskoj klinici, Dečjoj internoj klinici, Klinici za patologiju i Centru za medicinsku biohemiju Kliničkog centra u Nišu, Zavodu za zaštitu zdravlja u Nišu i Institutu za neonatologiju u Beogradu. U istraživanje je uključena 91 ispitanica, a sprovedeno je po tipu prospektivne, randomizirane studije. Ispitanice su podeljene u 2 grupe. Prvu (eksperimentalnu) grupu čine pacijentkinje sa jednoplodnom trudnoćom i dijagnozom prevremenog porođaja. Drugu (kontrolnu) grupu čine pacijentkinje sa jednoplodnom trudnoćom porođene u terminu. Poređene su frekvencije i vrednosti pojedinih kategorija opisnih i numeričkih obeležja ispitanica eksperimentalne i kontrolne grupe, kao i frekvencije i vrednosti obeležja ispitanica eksperimentalne grupe u odnosu na prisustvo patološke genitalne flore, nivo IL-6 u amnionskoj tečnosti i HP nalaz placente i plodovih ovoja. Ispitanice obe grupe su pisanom saglasnošću prihvatile sve primenjene invazivne kao i neinvazivne procedure.

Ispitivani parametri:

1. Godine života, paritet, zanimanje
2. Životna i akušerska anamneza (oboljenja koja u svojoj osnovi imaju hroničnu inflamaciju, urednost menstrualnih ciklusa, infertilitet, prethodni pobačaji i prevremeni porođaji, krvarenja u trudnoći, PIH i preeklampsija, virusne infekcije, nespecifična antitela)
3. Gestacijska starost
4. Klinički parametri horioamnionitisa (povišena telesna temperatura ( $37,8^{\circ}\text{C}$ ), maternalna leukocitoza ( $>15000 \text{ Le}/\text{mm}^3$ ), povišene vrednosti CRP-a ( $>10\text{mg}/\text{L}$ ), maternalna tahikardija ( $>100 \text{ otk}/\text{min}$ ), fetalna tahikardija ( $>160 \text{ otk}/\text{min}$ ), zaudarajuća vaginalna sekrecija)
5. Prisustvo patogena u vaginalnom i cervikalnom brisu trudnice (abnormalna kolonizacija donjeg genitalnog trakta) (*Streptococcus B haemolyticus*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis*, *anaerobi*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*)

6. Prisustvo patogena u urinu trudnice (simptomatska i asimptomatska bakteriurija)
7. Prisustvo PROM-a i PPRM-a
8. Prisustvo retroplacentnog hematoma
9. Ablacija placentе
10. Intrauterini zastoj fetalnog rasta (IUGR)
11. Otpor protoku krvi u uterinim krvnim sudovima (RI a. ut>0.56)
12. Kardiotokogram
13. Način porođaja (vaginalni porođaj, carski rez)
14. Ap skor na rođenju
15. Telesna masa neonatusa na rođenju
16. Neonatalni laboratorijski parametri (Le( $10^9$ /L), CRP(mg/L), LDH,  $\gamma$ GT, CPK (U/L))
17. Neonatalna hemokultura
18. Ehosonografski nalaz CNS-a neonatusa
19. Dijagnoza neonatusa na otpustu (neonatalna sepsa, RDS, BPD, IVH, NEC...)
20. Nivo glukoze u plodovoj vodi (< 0,8mmol/L)
21. Br. Le u plodovoj vodi (> $30 \times 10^9$ /L)
22. Nivo CRP-a u plodovoj vodi (mg/L)
23. Nivo IL-6 u plodovoj vodi (>2,6ng/ml) Dijagnoza intraamnijalne inflamacije postavljena je na osnovu koncentracije IL-6 u plodovoj vodi. Amnijska tečnost uzimana je putem transabdominalne amniocenteze, centrifugirana i zamrzavana na -70°C. Koncentracija interleukina-6 određivana je visokosenzitivnim kolorimetrijskim ELISA testom (R&D Systems) čija je senzitivnost <1pg/ml
24. HP nalaz placentе (prisustvo akutnih inflamatornih promena u membranoznom i horionskom delu placentе kao i prisustvo vaskularnih lezija)

Za sređivanje i prikazivanje podataka korišćen je Microsoft Office Excel 2007, a za statističke analize R program.

Frekvencije pojedinih kategorija opisnih obeležja između grupa poredene su  $\chi^2$  testom ili Fisher-ovim testom u slučajevima kada je neka od frekvencija bila manja od 5. Poređenje vrednosti numeričkih obeležja između eksperimentalne i kontrolne grupe vršeno je Studentovim t-testom ili Mann-Whitney U testom u slučajevima kada nije bio ispunjen uslov normalnosti rasporeda. Poređenje numeričkih vrednosti između 3 grupe ispitanica vršeno je jednostranom analizom varijanse (one-way ANOVA) i sledbenim Tukey post-hoc testom.

Nivo verovatnoće od 5% ( $p < 0,05$ ) je uzet kao granični nivo statističke značajnosti.

## IV

# REZULTATI ISTRAŽIVANJA

*Poređenje vrednosti obeležja ispitanica eksperimentalne i kontrolne grupe, kao i vrednosti obeležja ispitanica eksperimentalne grupe u odnosu na prisustvo patološke genitalne flore, nivo IL-6 u amnionskoj tečnosti i HP nalaz placente i plodovih ovoja*

*Tabela 1. Starost, paritet i zanimanje ispitanica eksperimentalne i kontrolne grupe.*

Obeležje	Eksperimentalna grupa (n=59)	Kontrolna grupa (n=46)	Poređenje između grupa
<b>Starosna dob</b>	27,93±5,83	27,35±5,02	$t=0,55$ i $p=0,58$
<b>Dobne grupe</b>			
Do 25 godina	17 (28,8%)	16 (34,8%)	$\chi^2=1,07$ i $p=0,59$
25 do 35 godina	<b>35 (59,3%)</b>	27 (58,7%)	
Preko 35 godina	7 (11,9%)	3 (6,5%)	
<b>Paritet</b>			
Prvorotka	<b>31 (52,5%)</b>	31 (67,4%)	$\chi^2=3,53$ i $p=0,17$
Drugorotka	20 (33,9%)	13 (28,3%)	
Višerotka	8 (13,6%)	2 (4,3%)	
<b>Zanimanje</b>			
Domaćica	<b>37 (62,7%)</b>	17 (37,0%)	$\chi^2=7,48$ i $p=0,02$
SSS	18 (30,5%)	21 (45,7%)	
VSS	4 (6,8%)	8 (17,4%)	

*Prevremeni porođaj se najčešće javlja u žena starosne dobi između 25 i 35 godina (59,3%) i to prvorotki (52,5%) nižeg stepena obrazovanja, bez zaposlenja (62,7%). Statistička značajnost u odnosu na kontrolnu grupu postoji samo u pogledu zanimanja, tj. socio-ekonomskog statusa.*

**Tabela 2. Incidenca prevremenog rađanja u odnosu na nedelje gestacije**

Obeležje	Ekperimentalna grupa (n=59)
Nedelja gestacije	30,39±3,72
Nedelja gestacije	
20 do 24	5 (8,5%)
25 do 28	12 (20,3%)
29 do 33	<b>29 (49,2%)</b>
34 do 37	13 (22%)

Prevremeni porođaj je najčešći u periodu između 29. i 33. nedelje gestacije (49,2%).

**Tabela 3. Životna i akušerska anamneza ispitanica i prevremeni porođaj**

Obeležje	Ekperimentalna grupa (n=59)	Kontrolna grupa (n=46)	Poređenje između grupa
<b>A.V.</b>			<b>p=0,03</b>
Neopterećena	46 (78,0%)	43 (93,5%)	
Opterećena	<b>13 (22,0%)</b>	3 (6,5%)	
<b>Akušerska anamneza</b>			<b>p=0,03</b>
Neopterećena	28 (47,5%)	32 (69,6%)	
Opterećena	<b>31 (52,5%)</b>	14 (30,4%)	

Trudnice u kojih nastupa prevremeni porođaj imaju statistički značajno češće opterećenu životnu i akušersku anamnezu u odnosu na one koje rode u terminu (22,0% naspram 6,5%).

U ekperimentalnoj grupi prevremenih porođaja 52,5% ispitanica imalo je opterećenu akušersku anamnezu.

**Tabela 4. Bakteriurija kod ispitanica ekperimentalne i kontrolne grupe**

Obeležje	Ekperimentalna grupa (n=59)	Kontrolna grupa (n=46)	Poređenje između grupa
<b>Bakteriološki pregled urina majke</b>			<b>p=0,04</b>
Bez patogenih bakterija	44 (74,6%)	42 (91,3%)	
Prisutne patogene bakterije	<b>15 (25,4%)</b>	4 (8,7%)	

Statistički značajno češće se bakteriurija sreće u ekperimentalnoj grupi (25,4% naspram 8,7% slučajeva kontrolne grupe).

**Tabela 5. Bakteriurija i patološka genitalna flora u eksperimentalnoj grupi**

Obeležje	Bez patogenih uzročnika (n=31)	Prisutni patogeni (n=28)	Poređenje između grupa
<b>Bakteriološki pregled urina majke</b>			$\chi^2=5,40$ i $p=0,02$
Bez patogenih bakterija	27 (87,1%)	17 (60,7%)	
Prisutne patogene bakterije	4 (12,9%)	<b>11 (39,3%)</b>	

Statistički je značajno česta udruženost bakteriurije i abnormalne kolonizacije donjeg genitalnog trakta (39,7% u odnosu na 12,9% slučajeva bakteriurije bez prisustva patološke genitalne flore) u eksperimentalnoj grupi.

**Tabela 6. Parametri kliničkog horioamnionitisa (intraamnijalne infekcije/inflamacije) u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi**

Obeležje	Eksperimentalna grupa (n=59)	Kontrolna grupa (n=46)	Poređenje između grupa
<b>Le majke (<math>10^9/L</math>)</b>			$p<0,001$
Odsustvo leukocitoze	28 (47,5%)	38 (82,6%)	
Leukocitoza	<b>31 (52,5%)</b>	8 (17,4%)	
<b>CRP majke (mg/L)</b>			$p<0,001$
Normalne vrednosti	18 (30,5%)	31 (67,4%)	
Povišene vrednosti	<b>41 (69,5%)</b>	15 (32,6%)	
<b>Telesna temperatura majke (C°)</b>			$p=0,50$
Normalna	57 (96,6%)	46 (100%)	
Povišena	<b>2 (3,4%)</b>	-	
<b>Vaginalni i cervikalni bris trudnice</b>			$\chi^2=3,96$ i $p=0,04$
Bez patogenih uzročnika	31 (52,5%)	33 (71,7%)	
Prisutni patogeni	<b>28 (47,5%)</b>	13 (28,3%)	
<b>Kardiotokogram</b>	<b>(n=45)</b>	<b>(n=44)</b>	$\chi^2=4,61$ i $p=0,20$
Uredan nalaz	<b>20 (44,4%)</b>	25 (56,8%)	
Fetalna tahikardija	<b>10 (22,2%)</b>	3 (6,8%)	
Ostalo	15 (33,3%)	10 (22,7%)	

Osim abnormalne kolonizacije donjeg genitalnog trakta (47,5%), statistički značajno češće u eksperimentalnoj grupi utvrđeno je prisustvo maternalne leukocitoze (52,5%), kao i povišene vrednosti CRP-a u njenom serumu (69,5%). Kardiotokogram u eksperimentalnoj grupi je uglavnom uredan ili najčešće pokazuje fetalnu tahikardiju (22,2%), ali bez statističke značajnosti u odnosu na kontrolnu grupu. Često odsustvo febrilnosti ide u prilog subkliničkom karakteru intrauterine infekcije.



**Tabela 7. Parametri kliničkog horioamnionitisa (intraamnijske infekcije/inflamacije) i abnormalna kolonizacija genitalnog trakta u eksperimentalnoj grupi**

Obeležje	Bez patogenih uzročnika (n=31)	Prisutni patogeni (n=28)	Poređenje između grupa
<b>Le majke (10<sup>9</sup>/L)</b>			$\chi^2=10,78$ i $p=0,001$
Odsustvo leukocitoze	21 (67,7%)	7 (25,0%)	
Leukocitoza	10 (32,3%)	<b>21 (75,0%)</b>	
<b>CRP majke (mg/L)</b>			$\chi^2=6,61$ i $p=0,01$
Normalne vrednosti	14 (45,2%)	4 (14,3%)	
Povišene vrednosti	17 (54,8%)	<b>24 (85,7%)</b>	
<b>Telesna temperatura majke (C°)</b>			p=0,99
Normalna	30 (96,8%)	27 (96,4%)	
Povišena	1 (3,2%)	<b>1 (3,6%)</b>	

Abnormalna kolonizacija donjeg genitalnog trakta eksperimentalne grupe je u 75% slučajeva udružena sa maternalnom leukocitozom i u 85,7% slučajeva sa povišenim nivoom CRP-a u maternalnom serumu, što je statistički značajno. Samo 3,6 % pacijentkinja eksperimentalne grupe sa patogenom genitalnom florom ima povišenu telesnu temperaturu.

**Tabela 8. Parametri kliničkog horioamnionitisa (intraamnijske infekcije/inflamacije) i nivo IL-6 u amnionskoj tečnosti u eksperimentalnoj grupi**

Obeležje	Normalan nivo (n=12)	Povišen nivo (n=7)	Poređenje između grupa
<b>Le majke (10<sup>9</sup>/L)</b>			p=0,99
Odsustvo leukocitoze	6 (50,0%)	4 (57,1%)	
Leukocitoza	6 (50,0%)	<b>3 (42,9%)</b>	
<b>CRP majke (mg/L)</b>			p=0,99
Normalne vrednosti	3 (25,0%)	2 (28,6%)	
Povišene vrednosti	9 (75,0%)	<b>5 (71,4%)</b>	
<b>Telesna temperatura majke (C°)</b>			p=0,99
Normalna	11 (91,7%)	7 (100,0%)	
Povišena	1 (8,3%)	-	
<b>Vaginalni i cervikalni bris trudnice</b>			p=0,65
Bez patogenih uzročnika	7 (58,3%)	3 (42,9%)	
Prisutni patogeni	5 (41,7%)	<b>4 (57,1%)</b>	

Povišen nivo IL-6 u amnionskoj tečnosti eksperimentalne grupe je u 42,9% slučajeva povezan sa maternalnom leukocitozom i u 71% slučajeva sa povišenim nivoom CRP-a u njenom serumu. 57% povišenog nivoa IL-6 udruženo je sa abnormalnom kolonizacijom genitalnog trakta.

**Tabela 9. Parametri kliničkog horioamnionitisa (intraamnijalne infekcije/inflamacije) i HP placente u eksperimentalnoj grupi**

Obeležje	Bez patološkog nalaza (n=11)	Inflamacija (n=32)	Vaskularne lezije (n=13)	Poređenje između grupa
<b>Le majke (10<sup>9</sup>/L)</b>				<b>I vs II: p&lt;0,05 II vs III: p&lt;0,05</b>
Odsustvo leukocitoze	8 (72,7%)	9 (28,1%)	9 (69,2%)	
Leukocitoza	3 (27,3%)	<b>23 (71,9%)</b>	4 (30,8%)	
<b>CRP majke (mg/L)</b>				<b>I vs II: p&lt;0,01</b>
Normalne vrednosti	7 (63,6%)	5 (15,6%)	3 (23,1%)	
Povišene vrednosti	4 (36,4%)	<b>27 (84,4%)</b>	10 (76,9%)	
<b>Vaginalni i cervikalni bris trudnice</b>				<b>I vs II: p&lt;0,001 II vs III: p&lt;0,05</b>
Bez patogenih uzročnika	10 (90,9%)	10 (31,3%)	9 (69,2%)	
Prisutni patogeni	1 (9,1%)	<b>22 (68,8%)</b>	4 (30,8%)	

Abnormalna kolonizacija genitalnog trakta (68,8%), povišen serumski nivo CRP-a (84,4%) i maternalna leukocitoza (71,9%) statistički se značajno češće javljaju u slučajevima u kojima postoje histopatološki verifikovane inflamatorne promene placente i plodovih ovoja u eksperimentalnoj grupi u odnosu na slučajeve iste grupe sa urednim HP nalazom (9,1%, 36,4% i 27,3%).

**Tabela 10. Biohemijski parametri inflamacije u amnionskoj tečnosti kod trudnica eksperimentalne i kontrolne grupe**

Obeležje	Eksperimentalna grupa (n=19)	Kontrolna grupa (n=16)	Poređenje između grupa
<b>Nivo glukoze u pl vodi (mmol/L)</b>			<b>p=0,03</b>
Normalan	17 (89,5%)	9 (56,3%)	
Snižen	<b>2 (10,5%)</b>	7 (43,8%)	
<b>Nivo IL-6 u plodovoj vodi (pg/ml)</b>			<b><math>\chi^2=15,38</math> i p&lt;0,001</b>
Normalan	12 (63,2%)	-	
Povišen	<b>7 (36,8%)</b>	16 (100%)	
<b>Broj Le u plodovoj vodi (10<sup>9</sup>/L)</b>			<b><math>\chi^2=2,29</math> i p=0,13</b>
Normalan	12 (63,2%)	6 (37,5%)	
Povišen	<b>7 (36,8%)</b>	10 (62,5%)	

Nivo glukoze u amnionskoj tečnosti snižen je u 10,5%, dok su broj Le i nivo IL-6 u plodovoj vodi povišeni u 36,8% slučajeva eksperimentalne grupe.

**Tabela 11. Učestalost PPROM-a, IUGR-a, ablacije posteljice i vrednost RI a. uterine u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi**

Obeležje	Eksperimentalna grupa (n=59)	Kontrolna grupa (n=46)	Poređenje između grupa
<b>PPROM</b>			
Odsutan	34 (57,6%)	36 (78,3%)	$\chi^2=4,95$ i $p=0,03$
Prisutan	<b>25 (42,4%)</b>	10 (21,7%)	
<b>IUGR</b>			
Odsutan	45 (76,3%)	29 (63%)	$\chi^2=2,17$ i $p=0,14$
Prisutan	14 (23,7%)	<b>17 (37%)</b>	
<b>Ablacija placente</b>			
Odsutna	53 (91,4%)	44 (95,7%)	p=0,46
Prisutna	<b>5 (8,6%)</b>	2 (4,3%)	
<b>RI arterije uterine</b>			
Normalna vrednost	11 (57,9%)	38 (86,4%)	<b>p=0,02</b>
Povišen RI	<b>8 (42,1%)</b>	6 (13,6%)	

(P)PROM se statistički značajno češće sreće u eksperimentalnoj grupi (42,4% naspram 21,7%). Rezultati takođe ukazuju na statistički značajno češću pojavu povećanog RI u uterinim krvnim sudovima eksperimentalne grupe (42,1% naspram 13,6%). Placentna abrupcija je češća kod prevremenog nego kod terminskog porođaja (8,6% naspram 4,3%), ali bez statističke značajnosti. Intrauterini zastoj fetalnog rasta je bez statističke značajnosti češći u kontrolnoj grupi.

**Tabela 12. Način porođaja i Ap skor u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi**

Obeležje	Eksperimentalna grupa (n=59)	Kontrolna grupa (n=46)	Poređenje između grupa
<b>Način porođaja</b>			
Vaginalni	<b>39 (66,1%)</b>	24 (52,2%)	p=0,16
Carski rez	20 (33,9%)	22 (47,8%)	
<b>Apgar skor</b>	<b>5,19±3,08</b>	<b>7,59±2,39</b>	<b>t=4,49</b> i <b>p&lt;0,001</b>
<b>Apgar skor</b>			
0	7 (11,9%)	2 (4,3%)	$\chi^2=17,61$ i $p=0,001$
1 do 4	13 (22%)	3 (6,5%)	
5 do 7	17 (28,8%)	5 (10,9%)	
8 do 10	<b>22 (37,3%)</b>	<b>36 (78,3%)</b>	

*U obe grupe najveći broj porođaja dovršen je vaginalnim putem. Ap skor 8-10 statistički je značajno viši u kontrolnoj, dok su vrednosti Ap skora 0-7 statistički značajno češće u eksperimentalnoj grupi.*

**Tabela 13. Ap skor i nivo IL-6 u eksperimentalnoj grupi**

Obeležje	Normalan nivo (n=12)	Povišen nivo (n=7)	Poređenje između grupa
<b>Apgar skor</b>	<b>7,08±2,43</b>	<b>3,00±3,06</b>	<b>t=3,02 i p=0,01</b>
<b>Apgar skor</b>			<b>χ<sup>2</sup>=7,97 i p=0,04</b>
0	1 (8,3%)	2 (28,6%)	
1 do 4	-	2 (28,6%)	
5 do 7	2 (16,7%)	2 (28,6%)	
8 do 10	9 (75%)	1 (14,2%)	

*Ap skor 0-7 statistički je značajno češći u grupi prevremenih porođaja sa povišenim nivoom IL-6 u plodovoj vodi (85,8%).*

**Tabela 14. Neonatalni inflamatorni odgovor i prisustvo abnormalne kolonizacije genitalnog trakta u eksperimentalnoj grupi**

Obeležje	Bez patogenih uzročnika (n=31)	Prisutni patogeni (n=28)	Poređenje između grupa
<b>Le neonatusa (10<sup>9</sup>/L)</b>			<b>χ<sup>2</sup>=6,29 i p=0,04</b>
U granicama referentnih vrednosti	15 (62,5%)	14 (63,6%)	
Leukocitoza	4 (16,7%)	<b>8 (36,4%)</b>	
Leukopenija	5 (20,8%)	-	
<b>CRP neonatusa (mg/L)</b>			<b>χ<sup>2</sup>=0,70 i p=0,40</b>
Normalne vrednosti	17 (70,8%)	13 (59,1%)	
Povišene vrednosti	7 (29,2%)	<b>9 (40,9%)</b>	
<b>Enzimi neonatusa</b>			<b>χ<sup>2</sup>=3,66 i p=0,06</b>
U granicama referentnih vrednosti	12 (50,0%)	5 (22,7%)	
Povišene vrednosti	12 (50,0%)	<b>17 (77,3%)</b>	

*Neonatalna leukocitoza (36,4%) je statistički značajno češća u grupi prevremenih porođaja sa abnormalnom kolonizacijom genitalnog trakta. Vrednosti CRP-a (40,9%) i enzimska aktivnost (77,3%) neonatusa eksperimentalne grupe su takođe češće povišeni u grupi sa patogenom genitalnom florom, ali bez statističke značajnosti.*

**Tabela 15. Neonatalni neuromorbiditet u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi**

Obeležje	Eksperimentalna grupa (n=42)	Kontrolna grupa (n=44)	Poređenje između grupa
<b>Eho CNS-a</b>			$\chi^2=23,55$ i $p=0,001$
<b>Uredan nalaz</b>	<b>4 (9,5%)</b>	<b>22 (50%)</b>	
PVL	4 (9,5%)	-	
IVH	5 (11,9%)	1 (2,3%)	
PVH	1 (2,4%)	-	
HIE	1 (2,4%)	-	
Periventr. pojačana ehogenost	15 (35,7%)	13 (29,5%)	
SEH	12 (28,6%)	7 (15,9%)	
Anomalije	-	1 (2,3%)	

*Ehsonografski nalaz CNS-a neonatusa statistički je značajno češće patološki u grupi prevremenih porođaja. PVL, IVH, PVH, HIE, SEH..., prisutni su u 90,5% slučajeva eksperimentalne grupe, dok se normalan ehosonografski nalaz CNS-a u istoj grupi beleži u samo 9,5% slučajeva.*

**Tabela 16. Ukupan neonatalni morbiditet u ispitivanoj i kontrolnoj grupi**

Obeležje	Eksperimentalna grupa (n=59)	Kontrolna grupa (n=46)	Poređenje između grupa
<b>Nenatalna Dg na otpustu</b>			
Bez patološkog nalaza	-	-	p=0,99
<b>RDS</b>	<b>35 (67,3%)</b>	3 (6,8%)	$\chi^2=36,46$ i $p<0,001$
IVH	4 (7,7%)	-	p=0,12
PVL	2 (3,8%)	-	p=0,50
<b>BPD</b>	<b>12 (23,1%)</b>	1 (2,3%)	$\chi^2=8,81$ i $p=0,003$
NEC	1 (1,9%)	-	p=0,99
Sepsis	12 (23,1%)	9 (20,5%)	$\chi^2=0,10$ i $p=0,76$
<b>ROP</b>	<b>9 (17,3%)</b>	-	$p=0,003$
Hyperbilirubinemia	16 (30,8%)	14 (31,8%)	$\chi^2=0,01$ i $p=0,91$
Hypoglicemia	7 (13,5%)	11 (25%)	$\chi^2=2,08$ i $p=0,15$
Anaemia	18 (34,6%)	1 (2,3%)	$\chi^2=15,70$ i $p<0,001$
Pneumonia	1 (1,9%)	-	p=0,99
Convulsiones	5 (9,6%)	2 (4,5%)	p=0,45
<b>Asphyxia</b>	<b>23 (44,2%)</b>	6 (13,6%)	$\chi^2=10,58$ i $p=0,001$
Anomalije	2 (3,8%)	3 (6,8%)	p=0,66
Ostalo	10 (19,2%)	9 (20,5%)	$\chi^2=0,02$ i $p=0,88$

*RDS, BPD, ROP, anemija i asfiksija se statistički značajno češće javljaju kod neonatusa eksperimentalne grupe, a takođe su i IVH, PVL, NEC, sepsa, pneumonija i konvulzije češći u eksperimentalnoj grupi.*

**Tabela 17. Hemokultura neonatusa eksperimentalne i kontrolne grupe**

Obeležje	Eksperimentalna grupa (n=24)	Kontrolna grupa (n=3)	Poređenje između grupa
<b>Hemokultura neonatusa</b>			p=0,54
Negativna	17 (70,8%)	3 (100%)	
Pozitivna	<b>7 (29,2%)</b>	-	

U 29,2% slučajeva uzetih hemokultura neonatusa eksperimentalne grupe nalaz je bio pozitivan.

**Tabela 18. Histopatološki nalaz posteljice u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi**

Obeležje	Eksperimentalna grupa (n=56)	Kontrolna grupa (n=46)	Poređenje između grupa
<b>HP placente</b>			$\chi^2=12,11$ i $p=0,002$
Bez patološkog nalaza	11 (19,6%)	24 (52,2%)	
Inflamacija	<b>32 (57,1%)</b>	17 (37%)	
Vaskularne lezije	<b>13 (23,2%)</b>	5 (10,9%)	

Histopatološki nalaz koji ukazuje na inflamaciju i prisustvo vaskularnih lezija statistički je značajno češći u eksperimentalnoj grupi. Inzlamatorne promene su prisutne u 57,1% slučajeva eksperimentalne i 37% slučajeva kontrolne grupe, dok se vaskularne lezije sreću u 23,2% slučajeva eksperimentalne i 10,9% slučajeva kontrolne grupe.

**Tabela 19. HP placente i patološka genitalna flora u eksperimentalnoj grupi**

Obeležje	Bez patogenih uzročnika (n=31)	Prisutni patogeni (n=28)	Poređenje između grupa
<b>HP placente</b>			$\chi^2=13,73$ i $p=0,001$
Bez patološkog nalaza	10 (34,5%)	1 (3,7%)	
Inflamacija	10 (34,5%)	<b>22 (81,5%)</b>	
Vaskularne lezije	9 (31,0%)	4 (14,8%)	

HP placente i plodovih ovoja statistički značajno češće (81,5%) pokazuje prisustvo inflamatornih promena u slučajevima abnormalne kolonizacije genitalnog trakta u eksperimentalnoj grupi.

**Tabela 20. Učestalost PPROM-a, IUGR-a, ablacije posteljice i vrednost RI a. uterine u odnosu na HP nalaz placente i plodovih ovoja u eksperimentalnoj grupi**

Obeležje	Bez patološkog nalaza (n=11)	Inflamacija (n=32)	Vaskularne lezije (n=13)	Poređenje između grupa
<b>PPROM</b>				<b>II vs III: p&lt;0,01</b>
Odsutan	7 (63,6%)	13 (40,6%)	12 (92,3%)	
Prisutan	4 (36,4%)	<b>19 (59,4%)</b>	<b>1 (7,7%)</b>	
<b>IUGR</b>				<b>II vs III: p&lt;0,05</b>
Odsutan	9 (81,8%)	27 (84,4%)	7 (53,8%)	
Prisutan	2 (18,2%)	<b>5 (15,6%)</b>	<b>6 (46,2%)</b>	
<b>Ablacija placente</b>				n.s.
Odsutna	10 (90,9%)	29 (93,5%)	11 (84,6%)	
Prisutna	1 (9,1%)	2 (6,5%)	<b>2 (15,4%)</b>	
<b>RI arterije uterine</b>				<b>II vs III: p&lt;0,05</b>
Normalna vrednost	4 (80,0%)	5 (100,0%)	2 (25,0%)	
Povišen RI	1 (20,0%)	-	<b>6 (75,0%)</b>	

PPROM je statistički značajno češće prisutan (59,4%) u slučaju postojanja inflamatornih promena placente i plodovih ovoja (horioamnionitis) nego što je to slučaj kod vaskularnih lezija. IUGR i povišen indeks rezistencije a. uterinae statistički značajno češće srećemo u slučajevima gde se pri HP pregledu konstatuju vaskularne lezije (46,2%, 75%). Ablacija placente je u slučaju prisustva vaskularnih lezija nesignifikantno češća.

**Tabela 21. Perinatalni mortalitet u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi**

Obeležje	Eksperimentalna grupa (n=59)	Kontrolna grupa (n=46)	Poređenje između grupa
<b>Umrli živorođenčad</b>			<b>p=0,002</b>
Ne	49 (83,1%)	46 (100%)	
Da	<b>10 (16,9%)</b>	-	
<b>Mrtvorodjenčad</b>			<b>p=0,08</b>
Ne	52 (88,1%)	45 (97,8%)	
Da	<b>7 (11,9%)</b>	1 (2,2%)	
<b>Ukupno umrlih</b>			<b><math>\chi^2=12,91</math> i <math>p&lt;0,001</math></b>
Ne	42 (71,2%)	45 (97,8%)	
Da	<b>17 (28,8%)</b>	<b>1 (2,2%)</b>	

U ovom istraživanju perinatalni mortalitet je statistički značajno viši u eksperimentalnoj grupi (28,8% naspram 2,2% u kontrolnoj grupi).

**Tabela 22. Perinatalni mortalitet u eksperimentalnoj grupi i nivo IL-6 u amnionskoj tečnosti**

Obležje	Normalan nivo (n=12)	Povišen nivo (n=7)	Poređenje između grupa
<b>Umrli živorođenčad</b>			p=0,12
Ne	12 (100,0%)	5 (71,4%)	
Da	-	2 (28,6%)	
<b>Mrtvorodenčad</b>			p=0,52
Ne	11 (91,7%)	5 (71,4%)	
Da	1 (8,3%)	2 (28,6%)	
<b>Ukupno umrlih</b>			<b>p=0,04</b>
Ne	11 (91,7%)	3 (42,9%)	
Da	<b>1 (8,3%)</b>	<b>4 (57,1%)</b>	

Ukupan perinatalni mortalitet eksperimentalne grupe je statistički značajno viši u slučajevima sa povišenim nivoom IL-6 u amnionskoj tečnosti (57,1% prema 8,3%).



## V

# DISKUSIJA

Incidenca prevremenog porođaja u Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra u Nišu iznosila je 7-8% u 2012. i 2013. godini. U nerazvijenim i zemljama u razvoju incidenca iznosi 19%, naspram 5-7% u razvijenim zemljama.<sup>479</sup> Uprkos globalnim i lokalnim dostignućima na polju preživljavanja prevremeno rođene dece, stopa preranog rađanja stalno raste.

U sprovedenom istraživanju prevremeni porođaj se najčešće javlja u žena starosne dobi između 25 i 35 godina i to prvorotki nižeg stepena obrazovanja, bez zaposlenja. Statistička značajnost u odnosu na kontrolnu grupu postoji samo u pogledu zanimanja, tj. socio-ekonomskog statusa, što je u skladu sa podacima u literaturi, kao i sa rezultatima drugih autora koji ukazuju na značaj socioekonomskog statusa u etiologiji prevremenog porođaja. Naime, socijalna podrška, direktno preko poboljšanja socioekonomskog statusa, a indirektno preko smanjenja stresa, depresije i anksioznosti mogla bi povoljno uticati na gestacijsku starost pri rođenju.<sup>480,481</sup>

Najveći broj slučajeva prevremenog porođaja beleži se u periodu između 29. i 33. nedelje gestacije (49,2%), što je u skladu sa podacima u savremenoj literaturi.

Trudnice u kojih je nastupio prevremeni porođaj imale su statistički značajno češće opterećenu životnu i akušersku anamnezu u odnosu na one koje su rodile u terminu. U životnoj anamnezi uzimana su u obzir ona oboljenja u čijoj je osnovi hronična inflamacija, a u akušerskoj neurednost menstrualnih ciklusa, infertilitet, prethodni pobačaji i prevremeni porođaji, krvarenja u trudnoći, PIH i preeklampsija. Dobijeni rezultati idu u prilog značaja uloge imunog sistema u trudnoći.

S obzirom da trombin može igrati važnu ulogu u uterusnoj kontraktilnosti to može objasniti kliničku observaciju da su intrauterini hematomi u ranoj trudnoći udruženi sa prevremenim porođajem,<sup>193</sup> kao i da je vaginalno krvarenje u prvom ili drugom trimestru faktor rizika za prevremeni porođaj.<sup>194,195</sup>

Podaci dobijeni u ovom istraživanju ukazuju na češću pojavu bakteriurije u grupi prevremenih porođaja. Statistički značajno češće se bakteriurija sreće u eksperimentalnoj grupi (25,4% naspram 8,7% slučajeva kontrolne grupe), što je u skladu sa pretpostavkom da sistemska infekcija majke (pijelonefritis, pneumonia...) dovodi do prevremenog

porođaja.<sup>138,139,140,141,504</sup> Međutim i asimptomatska bakteriurija je snažno povezana sa pijelonefritisom, prevremenim porođajem, mentalnom retardacijom i zastojem u rastu ploda.<sup>500</sup> Administracija antibiotika pacijentima sa asimptomatskom bakteriurijom značajno smanjuje stopu prevremenog rađanja. Učestalost asimptomatske bakteriurije iznosi 2-14% tokom trudnoće. S obzirom na ovu relativno visoku učestalost, kao i zbog mogućih loših uticaja, preporučuje se rutinski skrining i tretman svih asimptomatskih bakteriurija u trudnoći.<sup>501,502,503,505</sup> Zlatni standard za skrining je urinokultura kod svih trudnica već kod njihove prve prenatalne posete.<sup>500</sup>

Statistički je značajno česta udruženost bakteriurije i abnormalne kolonizacije donjeg genitalnog trakta (39,7% u odnosu na 12,9% slučajeva bakteriurije bez prisustva patološke genitalne flore) u eksperimentalnoj grupi što je u skladu sa kliničkom praksom.

Osim abnormalne kolonizacije donjeg genitalnog trakta, statistički značajno češće u eksperimentalnoj grupi utvrđeno je prisustvo maternalne leukocitoze, kao i povišene vrednosti CRP-a u njenom serumu. Leukocitoza i povišene serumske vrednosti CRP-a prisutne su u 52,5%, odnosno 69,5% ispitanica eksperimentalne grupe. Kardiotokogram u eksperimentalnoj grupi je uglavnom uredan ili najčešće pokazuje fetalnu tahikardiju, ali bez statističke značajnosti u odnosu na kontrolnu grupu. Sve ovo ukazuje na čestu pojavu intrauterine infekcije/inflamacije u grupi prevremenih porođaja. Često odsustvo febrilnosti trudnica može se tumačiti subkliničkim karakterom intrauterine infekcije.

U eksperimentalnoj grupi, u 47,5% slučajeva utvrđeno je prisustvo abnormalne kolonizacije genitalnog trakta što je u skladu sa mnogim mikrobiološkim i histopatološkim studijama koje pokazuju da se infekcija/inflamacija javljaju u 40% prevremenih porođaja.<sup>146</sup> Prema nekim autorima ovaj procenat je znatno veći i kreće se između 70% i 90%.

Brojna istraživanja dovode u vezu abnormalnu kolonizaciju donjeg genitalnog trakta i prevremeni porođaj. Lamont je izvršio klasifikaciju ove kolonizacije i podelio abnormalnu genitalnu floru u 4 grupe: 1) Patogena (*Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*), 2) Grupa  $\beta$  hemolitičkih streptokoka, 3) Enterofaringealni organizmi (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*), 4) Organizmi u vezi sa bakterijskom vaginozom (anaerobi, *Mycoplasma hominis* i *Gardnerella vaginalis*).<sup>482</sup> Brojne studije pokazuju da je prisustvo abnormalne genitalne flore udružena sa prevremenim rađanjem.<sup>483</sup>

*Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* ili *Gardnerella vaginalis* se često mogu naći u amnijskoj tečnosti kod žena sa prevremenim porođajem i PPROM-om<sup>484,485</sup> U nekim istraživanjima se navodi da je utvrđivanje prisustva *Ureaplasme urealyticum* u amnijskoj tečnosti u drugom trimestru trudnoće važan parametar identifikacije pacijenata sa

rizikom prevremenog porođaja.<sup>486</sup> *Ureaplasma urealyticum* je identifikovana u 11% uzorkovanih amnionskih tečnosti u periodu od 15-17. ng kod asimptomatskih pacijenata. Prevremeni porođaj je usledio kod 58% ureaplazma pozitivnih i 4% ureaplazma negativnih trudnica.<sup>486</sup>

Kada je u pitanju cervikalna infekcija *Chlamydom trachomatis* u 24. ng rezultati istraživanja su konfliktni. Neki autori smatraju da ona 2-3 puta povećava rizik za prevremeni porođaj.<sup>487</sup> Drugi ističu da nije jasna njena udruženost sa prevremenim porođajem, ali da je svakako, zbog mogućeg ozbiljnog, lošeg perinatalnog ishoda (pneumonia i ophthalmia neonatorum u slučaju vertikalne transmisije), indikovani njen tretman.<sup>12,488</sup>

*Streptococcus β haemolyticus* je važan zbog razornih efekata koje ima na prevremeno rođene i neonatuse niske porođajne težine.<sup>489,490,491</sup> Iako je asimptomatska bakteriurija ovim streptokokom faktor rizika i njen tretman redukuje stopu prevremenih porođaja, kolonizacija donjeg genitalnog trakta ovim streptokokom ne predstavlja faktor rizika za prevremeni porođaj.

Uvidom u meta-analize bakterijska vaginoza povećava rizik od prevremenog porođaja za oko 40-60%.<sup>492,493</sup> Stoga bi razumno bilo razmotriti da li je moguće predvideti prevremeni porođaj otkrivanjem abnormalne genitalne flore u ranoj trudnoći. Bakterijska vaginoza je stanje u kome postoji promena normalne flore vagine, odnosno zamena laktobacila drugim organizmima kao što su anaerobne bakterije, genitalne mikoplazme, *Gardnerella vaginalis*. U većini slučajeva stanje je asimptomatsko. Intrauterina infekcija može rezultirati iz hronične infekcije nastale u ranoj trudnoći i konačno, sa kontrakcijama postati simptomatska, pri čemu može dovesti do spontanog pobačaja ili prevremenog porođaja. Bakterijska vaginoza u ranoj trudnoći može biti jači faktor rizika od bakterijske vaginoze u kasnijoj trudnoći.

Iako rezultati većine istraživanja podržavaju teoriju da hronična infekcija počinje u ranoj trudnoći, strategije za skrining i lečenje bakterijske vaginoze u trudnoći su i dalje kontroverzne. Pojedini autori ne preporučuju skrining i lečenje bakterijske vaginoze kod asimptomatskih pacijenata sa niskim rizikom za prevremeni porođaj.<sup>494,495</sup> Tebes i sar. su otkrili smanjenje učestalosti prevremenog porođaja kada je bila tretirana bakterijska vaginoza, ali većina istraživanja vršena je na ženama sa istorijom prevremenog porođaja.<sup>496</sup> Oni su zaključili da lečenje visokorizične populacije sa dijagnozom bakterijske vaginoze daje priliku da se eventualno spreči prevremeni porođaj u ovoj populaciji. Kod nulipara bez istorije prevremenog rađanja lečenje se preporučuje ukoliko su prisutni i drugi faktori rizika (npr. *Chlamydiae*), ali u opštoj populaciji niskog rizika rutinski skrining nije naznačen.

Najobimnije istraživanje obavljeno do danas je ORACLE II. U ovoj studiji, žene su u 6295 spontanih prevremenih porođaja sa intaktnim membranama i bez dokazane kliničke infekcije nasumično primale eritromicin, amoksiklav, oba ili placebo. Administracija antibiotika je produžavala trudnoću i bila povezana sa značajnim smanjenjem stope infekcije majke. Nažalost, administracija antibiotika nije imala značajan uticaj na primaran neonatalni ishod koji je uključivao neonatalnu smrt, CLD/BPD ili velike cerebralne ultrazvučne abnormalnosti.<sup>497</sup>

Lamont i sar.<sup>482</sup> su kritikovali ovu studiju i obeležili 3 tačke u svojoj kritici. Prvo, trudnice nisu testirane na infekciju. Etiologija prevremenog rađanja je multifaktorijalna i infekcija je odgovorna za samo 40% slučajeva. Logično je da antibiotici ne bi imali koristan efekat na spontani prevremeni porođaj neinfektivne etiologije. Drugo, antibiotici koji su korišćeni u studiji (ertromicin i amoksiklav) nisu korisni u slučaju postojanja bakterijske vaginoze. Konačno, jedna studijska grupa dobijala je kombinaciju eritromicina i amoksiklava od kojih jedan deluje baktericidno, drugi bakteriostatski, tako da su njihova delovanja bila poništena. Oni su sugerisali da su pogrešni antibiotici davani pogrešnim pacijentima suviše kasno u trudnoći. Autori meta-analize koja uključuje i ORACLE studiju zaključuju da se antibiotski tretmani ne mogu preporučiti za rutinsku praksu.<sup>498</sup>

Međutim, Lamont<sup>499</sup> je koristio 2% klindamicin vaginalne kreme za žene sa abnormalnom florom genitalnih puteva pre 20. nedelje trudnoće i prijavio 60% smanjenu učestalost prevremenog porođaja i potrebu za neonatalnom intenzivnom negom u poređenju sa placebom. Kada se nivo inflamatornih medijatora, kao što su citokini, poveća u fetomaternalnim tkivima, može biti prekasno i štetno pokušavati zaustaviti porođaj. Antibiotici sami, verovatno nisu od pomoći u tom trenutku. Logično je da bi antibiotike trebalo davati rano u trudnoći i to kod visokoričnih i simptomatskih pacijenata sa bakterijskom vaginozom.

Abnormalna kolonizacija donjeg genitalnog trakta eksperimentalne grupe je u 75% slučajeva udružena sa leukocitozom majke i u 85,7% slučajeva sa povišenim nivoom CRP-a u maternalnom serumu što je statistički značajno. Samo 3,6 % pacijentkinja eksperimentalne grupe sa patogenom genitalnom florom imalo je povišenu telesnu temperaturu. Rezultat je u skladu sa pretpostavkom da je intrauterina infekcija/inflamacija uglavnom posledica abnormalne kolonizacije donjeg genitalnog trakta.<sup>483</sup>

Povišen nivo IL-6 u amniotskoj tečnosti trudnica eksperimentalne grupe je u 42,9% slučajeva bio povezan sa maternalnom leukocitozom i u 71% slučajeva sa povišenim nivoom CRP-a u serumu trudnice. 57% povišenih nivoa IL-6 nađeno je u slučajevima abnormalne

kolonizacije genitalnog trakta. Dobijeni rezultati su u skladu sa pretpostavkom da nivo IL-6 u amnionskoj tečnosti može biti senzitivniji biomarker intrauterine infekcije/inflamacije.<sup>506</sup>

Abnormalna kolonizacija genitalnog trakta (68,8%), povišen serumski nivo CRP-a (84,4%) i leukocitoza (71,9%) statistički se značajno češće javljaju u slučajevima u kojima postoje histopatološki verifikovane inflamatorne promene placente i plodovih ovoja u grupi prevremenih porođaja, u odnosu na slučajeve iste grupe sa urednim HP nalazom (9,1%, 36,4% i 27,3%) što potvrđuje čestu udruženost kliničkog i histološkog horioamnionitisa.

Koncentracija IL-6 u amnionskoj tečnosti smatra se markerom intraamnijske inflamacije i to najčešće udruženo sa mikrobiološkom infekcijom amnionske tečnosti ili horioamnionskog prostora<sup>150,151,152</sup> Veliki broj radova potvrđuje značajan skok koncentracije IL-6 u predporođajnoj cervikalnoj sluzi, cervikalnom tkivu, plodovim ovojima, plodovoj vodi i serumu trudnice, bilo da se radi o porođaju komplikovanom horioamnionitisom ili infektivnim agensima nekomplikovanom porođaju, terminskom ili preterminskom porođaju.<sup>263</sup> Naravno, koncentracija IL-6 u plodovim ovojima i plodovoj vodi je značajno viša kada je prisutan horioamnionitis.<sup>263,286</sup>

U sprovedenoj analizi nivo glukoze u amnionskoj tečnosti snižen je u 10,5% slučajeva prevremenih porođaja, dok su broj Le i nivo IL-6 u plodovoj vodi povišeni u 36,8% slučajeva eksperimentalne grupe što je u skladu sa pretpostavkom da je intrauterina infekcija/inflamacija uzrok oko 40% prevremenih porođaja.

Dobijeni rezultat ide i u prilog tvrdnji da je koncentracija IL-6 u plodovoj vodi senzitivniji biohemijski marker intrauterine infekcije/inflamacije i bolji prediktor prevremenog porođaja nego što je to snižavanje nivoa glukoze u amnionskoj tečnosti.<sup>506</sup> U većini radova nivo glukoze amnionske tečnosti bio je značajno niži kod pacijenata sa pozitivnom kulturom amnionske tečnosti, ali ne i kod pacijenata sa samo histološkim horioamniotismom, tako da je osetljivost ovog testa za detekciju obe vrste intrauterine infekcije u rasponu od 41-55%, specifičnost od 94-100%, pozitivna prediktivna vrednost 86-100%, a negativna prediktivna vrednost u rasponu od 70-80% sa istim pragovima, iz čega se zaključuje da je nizak nivo glukoze u amnionskoj tečnosti specifičan, ali neosetljiv marker za intrauterinu infekciju kod pacijenata sa prevremenim porođajem.<sup>507,508</sup>

Neki radovi ističu značaj koncentracije IL-1 $\beta$  u plodovoj vodi tokom srednjeg trimestra trudnoće smatrajući da ona može poslužiti kao marker prevremenog porođaja. Nasuprot tome, koncentracije IL-10 i IL-18 nisu povišene u srednjem trimestru i ne mogu služiti u ovu svrhu.<sup>509</sup>

I drugi autori ukazuju na značaj imunog sistema za uspešan tok trudnoće. Povišene koncentracije proinflammatoryh markera (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , IL-8) pronađene su u amnionskoj tečnosti kako ročnog tako i prevremenog porođaja. Ovi markeri se mogu koristiti za dijagnozu intraamnijske infekcije/inflamacije koja je najčešći uzrok prevremenog rađanja i PPROM-a.<sup>510,511</sup>

Osim značaja proinflammatoryh i antiinflammatoryh citokina, savremena istraživanja sve više ukazuju na značaj nivoa MMP-8 u amnionskoj tečnosti kao mogućeg, najpreciznijeg prediktora skorog prevremenog porođaja.<sup>512,513,514,515</sup>

Statistički značajno češće se u eksperimentalnoj grupi sreću PPROM i povišena vrednost indeksa rezistencije arterije uterine dok je ablacija posteljice takođe češća ali bez statističke značajnosti. Intrauterini zastoj fetalnog rasta je bez statističke značajnosti češći u kontrolnoj grupi.

U sprovedenom istraživanju (P)PPROM se statistički značajno češće sreće u eksperimentalnoj grupi (42,4% naspram 21,7%), što je u skladu sa podacima u literaturi. Prevremena aktivacija decidue/membrana vodi PPROM-u u 40% svih prevremenih porođaja.<sup>516</sup> Precizan mehanizam membrano-decidualne aktivacije još uvek nije rasvetljen. Pretpostavlja se da značajnu ulogu u tom procesu imaju matrix degradirajući enzimi. Uočena je povećana raspoloživost MMP-1,<sup>241</sup> MMP-8,<sup>242</sup> MMP-9 i neutrofilne elastaze<sup>243</sup> u amnionskoj tečnosti kod žena sa PPROM-om.

Apoptoze su takođe važne u mehanizmu membranske rupture.<sup>245,246</sup> Ruptura membrana je udružena sa prekomernom ekspresijom pro-apoptotičkih gena i smanjenom ekspresijom anti-apoptotičkih gena.<sup>247</sup>

Plazmin takođe ima ulogu u ovom procesu jer vrši degradaciju kolagena tipa III i fibronektina.<sup>244</sup>

Trombin-antitrombin kompleksi (TAT) su povišeni u plazmi<sup>190</sup> i amnionskoj tečnosti<sup>191,517,518</sup> žena sa prevremenim porođajem. Porast plazma TAT kompleks koncentracije u drugom trimestru udružen je sa PPROM-om.<sup>192</sup>

Cobo i sar. su nastojali da utvrde ulogu „proteomic“ biomarkera (calgranulins A i C i neutrophil defensins 1 i 2) kao nezavisnih prediktora nepovoljnog ishoda u slučajevima sa PPROM-om, pri čemu su zaključili da su ovi biomarkeri nezavisni prediktori intraamnijske infekcije i sledstvenog neonatalnog morbiditeta, te da cervikalna dužina i nivo IL-6 ne utiču na poboljšanje njihove prediktivne vrednosti.<sup>519</sup> Ovi rezultati podržavaju dalja istraživanja da se preciznije utvrdi potencijalni doprinos „proteomic“ biomarkera u kliničkom menadžmentu

pacijenta sa PPROM-om. U nekim se radovima ističe i značaj „epigenomic“ analize u pokušaju razumevanja patološkog mehanizma PPROM-a i prevremenog porođaja.<sup>520</sup>

Placentna abrupcija je češća kod prevremenog nego kod terminskog porođaja;<sup>174,175</sup> Dobijeni rezultati su u skladu sa ovim istraživanjima (8,6% naspram 4,3%), ali bez statističke značajnosti.

Kod žena sa prevremenim porođajem nađen je poremećaj fiziološke transformacije miometralnog segmenta spiralnih arterija<sup>176,177,521,522</sup> Rezultat ovog istraživanja ukazuje na statistički češću pojavu povećanog otpora u uterinim krvnim sudovima u eksperimentalnoj grupi (42,1% naspram 13,6% u kontrolnoj grupi). Mnogi radovi ističu da je prevremeni porođaj češći kod žena sa povećanim otporom protoku krvi u uterinim krvnim sudovima, nego kod onih sa urednim doppler parametrima;<sup>178,179,180</sup> Kada je uteroplacentna ishemija dovoljno teška da dovede do decidualne nekroze i hemoragije, trombin može aktivirati mehanizam porođaja jer je decidua bogat izvor ovog tkivnog faktora, primarnog inicijatora koagulacije.<sup>185</sup>

U sprovedenom istraživanju način dovršavanja porođaja (vaginalni porođaj, carski rez) nije se značajno razlikovao među grupama. U obe grupe najveći broj porođaja dovršen je vaginalnim putem, ali je perinatalni ishod u pogledu Ap skora statistički značajno lošiji u grupi prevremenih porođaja.

Ap skor 8-10 statistički je značajno viši u kontrolnoj grupi, dok su vrednosti Ap skora 0-7 statistički značajno češće u eksperimentalnoj grupi.

Ap skor 0-7 statistički je značajno češći u grupi prevremenih porođaja sa povišenim nivoom IL-6 u plodovoj vodi što ide u prilog pretpostavci da je intraamnijalna inflamacija čest uzrok prevremenog porođaja i da je udružena sa lošim perinatalnim ishodom.

Neonatalna leukocitoza (36,4%) je statistički značajno češća u grupi prevremenih porođaja sa abnormalnom kolonizacijom genitalnog trakta. Vrednosti CRP-a (40,9%) i enzimska aktivnost (77,3% %) neonatusa eksperimentalne grupe su takođe češće povišeni u grupi sa patogenom genitalnom florom ali bez statističke značajnosti. Slični rezultati dobijeni su i u drugim istraživanjima.

Mikrobijalna invazija uteruse rezultuje fetalnim sistemskim inflamatornim odgovorom (FIRS).<sup>348</sup> FIRS je subkliničko stanje opisano kod fetusa u prevremenom porođaju sa intaktnim membranama ili PPROM-om i definiše se kao koncentracija fetalnog plazma IL-6 >11 pg/ml<sup>164</sup> Hematološki profil fetusa sa FIRS-om karakterišu značajne promene u ukupnom broju Le i neutrofila, a broj Er pokazuje tendencu da bude viši nego kod fetusa bez FIRS-a.<sup>524</sup> IL-6 je glavni medijator odgovora domaćina na infekciju i oštećenje

tkiva, sposoban da izazove biohemijske, fiziološke i imunološke promene u domaćinu, uključujući stimulaciju produkcije C-reaktivnog proteina od strane jetrenih ćelija, aktivaciju T i NK ćelija. Sistemski fetalni inflamatorni odgovor može progredirati do multiple organske disfunkcije,<sup>165</sup> septičkog šoka pa i smrti. Neki autori navode da je leukocitoza majke dobar prognostički marker za razvoj FIRS-a.<sup>525</sup>

Mnogi radovi pokazuju da je intraamnijalna inflamacija udružena sa lošim perinatalnim ishodom bez obzira da li je intraamnijalna mikrobna invazija prisutna ili ne. Takođe se smatra da intraamnijalna inflamacija nije jednostavno prisutna ili odsutna, već da ima stepene težine koji koreliraju sa lošim perinatalnim ishodom.<sup>526</sup>

Sprovedeno istraživanje pokazuje da je ehosonografski nalaz CNS-a neonatusa statistički značajno češće patološki u grupi prevremenih porođaja. PVL, IVH, PVH, HIE, SEH..., prisutni su u 90,5% slučajeva eksperimentalne grupe, dok se normalan ehosonografski nalaz CNS-a u istoj grupi beleži u samo 9,5% slučajeva.

Brojni klinički podaci pokazuju da se intrauterina infekcija može povezati sa lošim neurološkim ishodom.<sup>381</sup> U mnogim studijama ukazuje se na značaj interakcije citokina i ekscitatorne aminokiseline (glutamata). Antenatalni insult CNS-a uključuje infekciju (oslobađanje proinflamatornih citokina) i hipoksiju-ishemiju (prekomerno oslobađanje ekscitatornog neurotransmitera).<sup>527</sup> Oštećenje mozga tokom antenatalne infekcije može biti sekundarno zbog citokinemije (citokini prolaze hematoencefalnu barijeru) ili zbog prekida placentnog protoka krvi što rezultuje asfiksijom.<sup>357</sup> Administracija niskih doza bakterijskog endotoksina (LPS) dramatično senzitivise imaturni mozak na oštećenje i indukuje cerebralne infarkte u odgovoru na kratke epizode hipoksije-ishemije koje same po sebi ne bi ili bi uzrokovale mala oštećenja.<sup>359</sup> Povišen nivo IL-1 i TNF-a i neutrofilna invazija infarceriranih područja prate hipoksiju-ishemiju i u odsustvu infekcije.<sup>359,360</sup> Citokini mogu biti neurotoksični putem procesa "senzitivizacije" imaturnog mozga smanjujući prag pri kome hipoksično-ishemični insult izaziva oštećenje.<sup>363</sup>

Neke metaanalize pokazuju značajnu povezanost između kliničkog horioamnionitisa, cistične periventrikularne leukomalacije (PVL) i cerebralne paralize (CP), dok se histološki horioamnionitis uglavnom povezuje sa cističnom PVL, ali manje sa CP.<sup>528</sup> Uočen je i 4 puta veći rizik od CP u novorođenčadi sa neonatalnom sepsom u odnosu na one bez nje<sup>529</sup> kao i povezanost povećanog nivoa inflamatornih citokina i razvoja spastične di, kvadri i hemiplegije.<sup>530</sup> U nekim se radovima ističe da su ovi citokini odgovorni i za čitav niz neurorazvojnih poremećaja kao što su autizam i shizofrenija.<sup>530,531</sup>



Trenutno ne postoji „zlatna“ preporuka za sprečavanje neuroloških oštećenja u oviru fetalnog/neonatalnog inflamatornog odgovora. Iako se polako razjašnjava veza između inflamacije i nepovoljno neurološkog ishoda, literatura sadrži oskudne podatke o merama koje mogu poboljšati ovaj ishod. Za neke farmakološke supstance kao što su magnezijum-sulfat, eritropoetin i kortikosteroidi, a u pogledu njihove neuroprotektivne funkcije, potrebna su dalja istraživanja.<sup>532</sup>

Osim neuromorbiditeta, RDS, BPD, ROP, anemija i asfiksija se statistički značajno češće javljaju kod neonatusa trudnica eksperimentalne grupe, a takođe su i IVH, PVL, NEC, sepsa, pneumonija i konvulzije češći u eksperimentalnoj grupi.

Fetalna izloženost infekciji/inflamaciji može sa jedne strane rezultirati maturacijom fetalnih pluća. Antenatalni horioamnionitis može pripremiti fetalna pluća da odgovore drugačije na postnatalna zbivanja, povećavajući rizik za CLD/BPD.<sup>364</sup> Ranija istraživanja ukazuju da PPROM može ubrzati plućnu maturaciju stimulacijom sinteze kortizola, čime se smanjuje incidenca RDS-a. Kasnije je dokazano da je incidenca RDS-a u obrnutoj korelaciji sa gestacijskom starošću, bez obzira na vreme nastanka i dužinu trajanja PPROM-a.<sup>533</sup>

Mnoge druge studije otkrivaju da FIRS uključuje sinergističku akciju različitih citokina i nekoliko kompleksnih mehanizama odbrane domaćina.<sup>352</sup> Zahvaljujući brojnim studijama danas znamo da FIRS, pre nego maternalna infekcija, uzrokuje multiorganska oštećenja fetusa.<sup>353</sup>

U skoro 29,2% slučajeva uzetih hemokultura neonatusa eksperimentalne grupe nalaz je bio pozitivan. Fetalna bakterijemija se detektuje u 30% pacijenata sa PPROM-om i pozitivnom kulturom amnionske tečnosti<sup>133</sup> što je u skladu sa rezultatima drugih autora.

Ovo istraživanje pokazuje da je histopatološki nalaz koji ukazuje na inflamaciju i prisustvo vaskularnih lezija statistički značajno češći u eksperimentalnoj grupi što je u skladu sa podacima u literaturi. Inflamatorne promene su prisutne u 57,1% slučajeva eksperimentalne i 37% slučajeva kontrolne grupe, dok se vaskularne lezije sreću u 23,2% slučajeva eksperimentalne i 10,9% slučajeva kontrolne grupe.

Histopatološke studije pokazuju da se infekcija/inflamacija javljaju u 40% prevremenih porođaja.<sup>146</sup> Neonatusi sa funisitisom imaju povećan rizik za neonatalnu sepsu<sup>167</sup> i dugoročne hendikepe kao što su BPD<sup>168</sup> i CP.<sup>169,170</sup>

Histološke studije placenti pacijentkinja sa prevremenim porođajem i PPROM-om pokazuju da je posle inflamacije najčešći tip lezija vaskularne prirode i da mogu uključivati i maternalnu i fetalnu cirkulaciju.<sup>171</sup> Maternalne lezije uključuju oštećenje fiziološke transformacije spiralnih arterija, aterosku i trombozu, dok poremećaji fetalne cirkulacije

podrazumevaju smanjen broj arteriola u resicama i fetalnu arterijsku trombozu. Pretpostavljeni mehanizam koji povezuje vaskularne lezije i prevremeni porođaj je uteroplacentna ishemija.

Vaskularne lezije decidualnih krvnih sudova se češće javljaju kod prevremenih nego kod terminskih porođaja;<sup>173</sup>

HP placente i plodovih ovoja statistički značajno češće pokazuje prisustvo inflamatornih promena u slučajevima abnormalne kolonizacije genitalnog trakta u eksperimentalnoj grupi što ukazuje na čestu povezanost prisustva patološke genitalne flore i histološkog horioamnionitisa.

PPROM je statistički značajno češće prisutan u slučaju postojanja inflamatornih promena placente i plodovih ovoja (horioamnionitis) nego što je to slučaj kod vaskularnih lezija. IUGR i povišen indeks rezistencije a. uterinae statistički značajno češće srećemo u slučajevima gde se pri HP pregledu konstatuju vaskularne lezije. Ablacija placente je u slučaju prisustva vaskularnih lezija nesignifikantno češća.

U ovom istraživanju perinatalni mortalitet je statistički značajno viši u eksperimentalnoj grupi (28,8%). Ukupan perinatalni mortalitet eksperimentalne grupe je statistički značajno viši u slučajevima sa povišenim nivoom IL-6 u amnionskoj tečnosti. Globalni podaci pokazuju da je perinatalni mortalitet za neonatuse gestacijske starosti između 25. i 28. nedelje iznosi 43,5%. Smrtnost novorođenčadi gestacijske starosti između 29. i 32. nedelje iznosi 11.3%, dok je mortalitet dece 33. i 34. nedelje gestacije 4,5%.

Osim negativnih zdravstvenih implikacija preranog rođenja, monetarna cena je veoma alarmantna. Samo Amerika godišnje potroši preko 26,2 milijardi dolara na zdravstvene intervencije i obrazovanje kadrova. Uprkos globalnim i lokalnim dostignućima u postotku preživljavanja prevremeno rođene dece, stopa prevremenih porođaja stalno raste<sup>479</sup> što svakako predstavlja alarm za modernu društvenu zajednicu.

# VI

## ZAKLJUČAK

1. Prevrmeni porođaj se najčešće javlja u prvotki nižeg socioekonomskog statusa, što potvrđuje ulogu socioekonomskih faktora u njegovoj etiologiji.
2. Trudnice u kojih nastupa prevremeni porođaj često u anamnezi imaju oboljenja koja u svojoj osnovi imaju hroničnu inflamaciju, neurednost menstrualnih ciklusa, infertilitet, prethodne pobačaje i prevremene porođaje, krvarenja u trudnoći, PIH, preeklampsiju.
3. Prevrmeni porođaj je često praćen bakteriurijom, što ukazuje na povezanost sistemske infekcije majke (pijelonefritis) kao i asimptomatske bakteriurije sa prevremenim porođajem.
4. Kod trudnica sa prevremenim porođajem često postoji abnormalna kolonizacija donjeg genitalnog trakta i često imaju udružene pozitivne parametre kliničkog i histološkog horioamnionitisa, što potvrđuje ulogu intrauterine infekcije/inflamacije u prevremenim porođajima. Često odsustvo febrilnosti ukazuje na subklinički karakter intrauterine infekcije/inflamacije.
5. Porast nivoa IL-6 u plodovoj vodi često prati preterminski porođaj, te može biti senzitivian biohemijski marker intrauterine infekcije/inflamacije i dobar prediktor prevremenog porođaja.
6. (P)PROM se značajno često sreće u prevremenim porođajima, naročito u slučaju postojanja inflamatornih promena placente i plodovih ovoja (horioamnionitis), što takođe potvrđuje ulogu infekcije/inflamacije u etiopatogenezi prevremenog porođaja.
7. Kod žena sa prevremenim porođajem često postoji poremećaj fiziološke transformacije miometralnog segmenta spiralnih arterija (povišen RI a. uterine) i često su histološki prisutne vaskularne lezije, što potvrđuje ulogu uteroplacentne ishemije i trombina u patofiziologiji prevremenog porođaja.
8. Ap skor 0-7 statistički je značajno češći u grupi prevremenih porođaja i to onih sa povišenim nivoom IL-6 u plodovoj vodi, što ide u prilog pretpostavci da je intraamnijalna inflamacija često udružena sa lošim perinatalnim ishodom.
9. Neonatalni neuromorbiditet, kao i ukupan neonatalni morbiditet znatno je viši u prevremenim nego u terminskim porođajima. Dobijeni rezultati signaliziraju da bi u

osnovi ovog visokog morbiditeta mogao biti fetalni/neonatalni sindrom inflamatornog odgovora.

10. Prevrmeni porođaji su praćeni znatno višim ukupnim perinatalnim mortalitetom u odnosu na terminske, a on je značajno viši u slučajevima sa povišenim nivoom IL-6 u amnijskoj tečnosti, što takođe ukazuje na udruženost intraamnijske infekcije/inflamacije i lošeg perinatalnog ishoda.

## GD

Analiza literature, rezultata aktuelnih istraživanja i dokazi izvedeni u ovom radu predstavljaju podršku za koncept da je prevremeni porođaj veoma složen poremećaj sindromske prirode i da intrauterina infekcija/inflamacija zauzima značajno mesto u njegovoj etiopatogenezi. Ista je „per se“ udružena sa lošim perinatalnim ishodom.

Pretpostavlja se da je prevremeni porođaj u kontekstu intrauterine infekcije mehanizam odbrane domaćina sa ciljem preživljavanja što omogućava majci da eliminiše inficirano tkivo, a fetusu da izađe iz neprijateljskog okruženja.<sup>134,135</sup>

Ovaj konceptualni okvir daje implikacije za razumevanje mehanizama odgovornih za pokretanje prevremenog porođaja, samim tim i za njegovu dijagnozu, lećenje i prevenciju. Pošto je prevremeni porođaj heterogeno stanje, malo je verovatno da će jedan dijagnostički modalitet ili jedna terapijska procedura biti primenljiva na sve slućajeve. Put napred zahteva dalje sistemsko ispitivanje taksonomije prevremenog porođaja, što je danas moguće koristeći „genomic“, „proteomic“ i „metabolomic“ tehnike.

Međutim, savremena medicina mora da se osvrne na činjenicu da je veoma često u osnovi ovog sindroma zapravo inflamatorni proces u mnogome pokrenut načinom života, životnim navikama u pogledu ishrane, nekritičnom masovnom upotrebom kozmetičkih preparata kao i drugim štetnim navikama i uticajima modernog društva. Sve pomenuto može dovesti do značajnih poremećaja unutrašnje sredine jedinke u najširem smislu. Porast broja pacijentkinja sa prevremenim porođajem kao i neonatusa sa sindromom fetalnog i neonatalnog inflamatornog odgovora predstavlja alarm ne samo za perinatologe i neonatologe već i za celu modernu društvenu zajednicu. Koliko se zaista temeljno i ozbiljno sagledavaju sindromi tih žena i dece, ko ih prati, šta se kasnije dešava sa njima???

# VII

## LITERATURA

1. World Health Organisation. The prevention of perinatal mortality and morbidity. Geneva, Switzerland: WHO Technical Report Series; Report 457, 1970
2. Carroll SG, Sebire NJ, Nicolaides KH. Infection: amniorrhexis, preterm delivery, neonatal sepsis. In: Nicolaides KH, edd. Preterm prelabour amniorrhexis. New York-London: The Parthenon Publishing Group, 1996: 51-74
3. Lamont RF. Infection in the prediction and antibiotics in the prevention of spontaneous preterm labor and preterm birth. *BJOG* 2003; 110(20): 71-75
4. Romero R, Espinoza J, Chaiworapongsa T, Kalache K. Infection and prematurity and the role of preventive strategies. *Semin Neonatal* 2002; 7: 259-74
5. Jacobsson B. Infectious and inflammatory mechanism in preterm birth and cerebral palsy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004; 115(2): 159-160
6. Jacobsson B, Holst RM, Wennerholm UB, Andersson B, Lilja H, Hagberg H. Monocyte chemotactic protein-1 in cervical and amniotic fluid: relationship to microbial invasion of the amniotic cavity, intra-amniotic inflammation, and preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189: 1161-1167
7. Winkler M. Role of cytokines and other inflammatory mediators. *BJOG* 2003; 110(20): 118-123
8. Keelan JA, Blumenstein M, Helliwell RJA, Sato TA, Marwin KW, Mitchell MD. Cytokines, prostoglandins and parturition-a review. *Placenta* 2003; 17: 33-46
9. Goldenberg RL, Culhane JF. Infection as a cause of preterm birth. *Clin Perinatol* 2003; 30(4): 677-700
10. Sato TA, Keelan JA, Mitchell MD. Critical paracrine interactions between TNF-alpha and IL-10 regulate lipopolysaccharide-stimulated human choriodecidual cytokine and prostaglandin E2 production. *J Immunol* 2003; 170(1): 158-66
11. Jacobsson B, Holst RM, Mattsby-Baltzer I, Nikolaitchouk N, Wennerholm UB, Hagberg H. Interleukin-18 in cervical mucus and amniotic fluid: relationship to microbial invasion of the amniotic fluid, intra-amniotic inflammation and preterm delivery. *BJOG* 2003; 110: 598-603
12. Romero R, Espinoza J, Chaiworapongsa T, Kalache K. Infection and prematurity and the role of preventive strategies. *Semin Neonatal* 2002; 7: 259- 274
13. Romero R, Mazor M. Infection and preterm labor. *Clin Obstet Gynecol* 1988;31:553-584
14. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med* 2000; 342: 1500-1507
15. Keelan JA, Blumenstein M, Helliwell RJA, Sato TA, Marwin KW, Mitchell MD. Cytokines, prostoglandins and parturition-a review. *Placenta* 2003; 17: 33-46
16. Saji F, Samejima Y, Kamiura S, Sawai K, Shimoya K, Kimura T. Cytokine production in chorioamnionitis. *J Reprod Immunol* 2000; 47: 185-196
17. Romero R, Wu YK, Mazor M, Brody DT, Oyarzun E, Hobbins JC, Mitchell MD. Human decidua: a source of interleukin-1. *Obstet Gynecol* 1989; 73: 31-34
18. Bowen JM, Chamley L, Mitchell MD, Keelan JA. Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: biosynthesis secretion and roles in establishment of pregnancy in women. *Placenta* 2002; 23: 239-256

19. Saji F, Samejima Y, Kamiura S, Sawai K, Shimoya K, Kimura T. Cytokine production in chorioamnionitis. *J Reprod Immunol* 2000; 47: 185-196
20. Challis JR, Sloboda DM, Alfaidy N, Lye SJ, Gibb W, Patel FA, Whittle WL, Newnham JP. Prostaglandins and mechanism of preterm birth. *Reproduction* 2002; 124: 1-17
21. Bahar AM, Ghalib HW, Moosa RA, Zaki ZM, Thomas C, Nabri OA. Maternal serum interleukin-6, interleukin- 8, tumor necrosis factor alpha and interferon-gamma in preterm labor. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2003; 82(6): 543-549
22. Lyon A. Chronic lung disease of prematurity. The role of intra-uterine infection. *Eur J Pediatr* 2000; 159: 98-802
23. Sullivan MH, Steel J, Kennea N, Feldman RG, Edwards AD. The role of intrauterine bacteria in brain injury. *Acta Pediatr Suppl* 2004; 93(444): 4-5
24. Ferrero-Miliani L, Nielsen OH, Andersen PS, Girardin SE. Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1beta generation. *Clin Exp Immunol* 147(2): 227–35
25. Cotran; Kumar, Collins. Robbins Pathologic Basis of Disease. Philadelphia: W.B Saunders Company, 1998
26. Lačković V, Labudović Borović M, Puškaš N, Vuković I, Mirić A, Nešić D. Citohistološke karakteristike vaskularnog endotela. II. *Kardiologija* 2001; 1-2: 1-15
27. Eming SA, Krieg T, Davidson JM. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *J Invest Dermatol* 2007; 127(3): 514-25
28. Ashcroft GS. Bidirectional regulation of macrophage function by TGF-beta. *Microbes Infect* 1999; 1(15): 1275-82
29. Werner F et al. Transforming growth factor-beta 1 inhibition of macrophage activation is mediated via Smad3. *J Biol Chem* 2000; 275(47): 36653-8
30. Sato Y, Ohshima T, Kondo T. Regulatory role of endogenous interleukin-10 in cutaneous inflammatory response of murine wound healing. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 265(1): 194-9
31. Serhan CN. Controlling the resolution of acute inflammation: a new genus of dual anti-inflammatory and proresolving mediators. *J Periodontol* 2008; 79(8): 1520-6
32. Greenhalgh DG. The role of apoptosis in wound healing. *Int J Biochem Cell Biol* 1998; 30(9): 1019-30
33. Jiang D et al. Regulation of lung injury and repair by Toll-like receptors and hyaluronan. *Nat Med* 2005; 11(11): 1173-9
34. Teder P et al. Resolution of lung inflammation by CD44. *Science* 2002; 296(5565): 155-8
35. McQuibban GA et al. Inflammation dampened by gelatinase A cleavage of monocyte chemoattractant protein-3. *Science* 2000; 289(5482): 1202-6
36. Serhan CN, Savill J. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nat Immunol* 2005; 6(12): 191–7
37. Bastard J et al. Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(9): 3338–42

38. Mohamed-Ali V et al. Beta-Adrenergic regulation of IL-6 release from adipose tissue: in vivo and in vitro studies. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(12): 5864-9
39. Clément K et al. Weight loss regulates inflammation-related genes in white adipose tissue of obese subjects. *FASEB J* 2004; 18(14): 1657-69
40. Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LCI, Hauth JC, Wenstrom KD. Parturition. In: Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LCI, Hauth JC, Wenstrom KD, editors. *Williams Obstetrics*. New York: McGraw-Hill, 2001; 251-90
41. Millar LK, DeBuque L, Wing DA. Uterine contraction frequency during treatment of pyelonephritis in pregnancy and subsequent risk of preterm birth. *J Perinat Med* 2003; 31: 41-46
42. Challis JRG. Mechanism of parturition and preterm labor. *Obstet Gynecol Surv* 2000; 55: 650-60
43. Korebrits C, Ramirez MM, Watson L, Brinkman E, Bocking AD, Challis JR. Maternal corticotropin-releasing hormone is increased with impending preterm birth. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1585-91
44. Leung TN, Chung TK, Madsen G, Lam PK, Sahota D, Smith R. Rate of rise in maternal plasma corticotrophin-releasing hormone and its relation to gestational length. *BJOG* 2001; 108: 527-32
45. Florio P, Cobellis L, Woodman J, Severi FM, Linton EA, Petraglia F. Levels of maternal plasma corticotropin-releasing factor and urocortin during labor. *J Soc Gynecol Investig* 2002; 9: 233-37
46. Nathanielsz P, Honnabier M. Myometrial function. In: Drife J, Calder A, editors. *Prostaglandins and the Uterus*. London: Springer-Verlag, 1992; 161
47. Romero R, Avila C, Sepulveda W, et al. The role of systemic and intrauterine infection in preterm labor. In: Fuchs A, Fuchs F, Stubblefield P, editors. *Preterm Birth: Causes, Prevention, and Management*. New York: McGraw-Hill, 1993
48. Honnabier MB, Jenkins SL, Wentworth RA, Figueroa JP, Nathanielsz PW. Temporal structuring of delivery in the absence of a photoperiod: preparturient myometrial activity of the rhesus monkey is related to maternal body temperature and depends on the maternal circadian system. *Biol Reprod* 1991; 45: 617-25
49. Honnabier MB, Figueroa JP, Rivier J, Vale W, Nathanielsz PW. Studies on the role of oxytocin in late pregnancy in the pregnant rhesus monkey: plasma concentrations of oxytocin in the maternal circulation throughout the 24-h day and the effect of the synthetic oxytocin antagonist [1-beta-Mpa(beta-(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>)<sub>1</sub>, (Me(Tyr<sub>2</sub>, Orn<sub>8</sub>)] oxytocin on spontaneous nocturnal myometrial contractions. *J Dev Physiol* 1989; 12: 225-32
50. Blanks AM, Vatish M, Allen MJ, Ladds G, de Wit NC, Slater DM et al. Paracrine oxytocin and estradiol demonstrate a spatial increase in human intrauterine tissues with labor. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 3392-400
51. Blanks AM, Thornton S. The role of oxytocin in parturition. *BJOG* 2003; 110(20): 46-51
52. Romero R, Sibai BM, Sanchez-Ramos L, Valenzuela GJ, Veille JC, Tabor B et al. An oxytocin receptor antagonist (atosiban) in the treatment of preterm labor: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial with tocolytic rescue. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 1173-83
53. The Worldwide Atosiban versus Beta-agonists Study Group. Effectiveness and safety of the oxytocin antagonist atosiban versus beta-adrenergic agonists in the treatment of preterm labour. *BJOG* 2001; 108: 133-42
54. European Atosiban Study Group. The oxytocin antagonist atosiban versus the beta-agonist terbutaline in the treatment of preterm labor. A randomized, double-blind, controlled study. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2001; 80: 413-22

55. Garfield RE, Hayashi RH. Appearance of gap junctions in the myometrium of women during labor. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 140: 254-60
56. Chow L, Lye SJ. Expression of the gap junction protein connexin-43 is increased in the human myometrium toward term and with the onset of labor. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170: 788-9
57. Schwahn H, Dubrauský V. The structure of the musculature of the human uterus-muscles and connective tissue. *Am J Obstet Gynecol* 1966; 94: 391
58. Danforth D, Evanston I. The distribution and functional activity of the cervical musculature. *Am J Obstet Gynecol* 1954; 68:1261
59. Uldbjerg N, Ekman G, Malmstrom A. Ripening of the human uterine cervix related to changes in collagen, glycosaminoglycans and collagenolytic activity. *Am J Obstet Gynecol* 1982; 147: 662
60. Uldbjerg N, Forman A, Peterson L, et al. Biomechanical and biochemical changes of the uterus and cervix during pregnancy. In: Reece E, Hobbins J, Mahoney M, Petrie R., editors. *Medicine of the Fetus and Mother*. Philadelphia: JB Lippincott, 1992; 849
61. Liggins G. Cervical ripening as an inflammatory reaction. In: Ellwood D, Anderson A, editors. *The Cervix in Pregnancy and Labour: Clinical and Biochemical Investigations*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1981
62. Ito A, Hiro D, Sakyo K, Mori Y. The role of leukocyte factors on uterine cervical ripening and dilation. *Biol Reprod* 1987; 37: 511-17
63. Osmer RG, Blaser J, Kuhn W, Tschesche H. Interleukin-8 synthesis and the onset of labor. *Obstet Gynecol* 1995; 86: 223-29
64. Ito A, Imada K, Sato T, Kubo T, Matsushima K, Mori Y. Suppression of interleukin 8 production by progesterone in rabbit uterine cervix. *Biochem J* 1994; 301(1): 183-86
65. Chwalisz K, Shi Shao O, Neff G, Elger J. The effect of antigestagen ZK 98, 199 on the uterine cervix. *Acta Endocrinol* 1987; 283: 113
66. Romero R. Clinical application of nitric oxide donors and blockers. *Hum Reprod* 1998;13: 248-50
67. 67. Facchinetti F, Piccinini F, Volpe A. Chemical ripening of the cervix with intracervical application of sodium nitroprusside: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2000; 15: 2224-27
68. Ekerhovd E, Weijdegard B, Brannstrom M, Mattsby- Baltzer I, Norstrom A. Nitric oxide induced cervical ripening in the human: Involvement of cyclic guanosine monophosphate, prostaglandin F(2 alpha), and prostaglandin E(2). *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186: 745-50
69. Ledingham MA, Thomson AJ, Young A, Macara LM, Greer IA, Norman JE. Changes in the expression of nitric oxide synthase in the human uterine cervix during pregnancy and parturition. *Mol Hum Reprod* 2000; 6: 1041-48
70. Heath VC, Southall TR, Souka AP, Elisseou A, Nicolaides KH. Cervical length at 23 weeks of gestation: prediction of spontaneous preterm delivery. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 12: 312-17
71. Hassan SS, Romero R, Berry SM, Dang K, Blackwell SC, Treadwell MC et al. Patients with an ultrasonographic cervical length < or =15 mm have nearly a 50% risk of early spontaneous preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 1458-67



72. Iams JD, Goldenberg RL, Meis PJ, Mercer BM, Moawad A, Das A et al. The length of the cervix and the risk of spontaneous premature delivery. National Institute of Child Health and Human Development Maternal Fetal Medicine Unit Network. *N Engl J Med* 1996; 334: 567-72
73. Mesiano S. Roles of estrogen and progesterone in human parturition. *Front Horm Res* 2001; 27: 86-104
74. Stjernholm Y, Sahlin L, Akerberg S, Elinder A, Eriksson HA, Malmstrom A et al. Cervical ripening in humans: potential roles of estrogen, progesterone, and insulinlike growth factor-I. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 1065-71
75. Bernal AL. Overview of current research in parturition. *Exp Physiol* 2001; 86: 213-22
76. Bygdeman M, Swahn ML, Gemzell-Danielsson K, Gottlieb C. The use of progesterone antagonists in combination with prostaglandin for termination of pregnancy. *Hum Reprod* 1994; 9(1): 121-25
77. McGarrigle HH, Lachelin GC. Increasing saliva (free) oestriol to progesterone ratio in late pregnancy: a role for oestriol in initiating spontaneous labour in man? *Br Med J* 1984; 289: 457-59
78. 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: 556-60
79. Milewich L, Gant NF, Schwarz BE, Chen GT, MacDonald PC. Initiation of human parturition. VIII. Metabolism of progesterone by fetal membranes of early and late human gestation. *Obstet Gynecol* 1977; 50: 45-48
80. Mitchell BF, Wong S. Changes in 17 beta,20 alpha-hydroxysteroid dehydrogenase activity supporting an increase in the estrogen/progesterone ratio of human fetal membranes at parturition. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168: 1377-85
81. Pieber D, Allport VC, Hills F, Johnson M, Bennett PR. Interactions between progesterone receptor isoforms in myometrial cells in human labour. *Mol Hum Reprod* 2001; 7: 875-79
82. How H, Huang ZH, Zuo J, Lei ZM, Spinnato JA, Rao CV. Myometrial estradiol and progesterone receptor changes in preterm and term pregnancies. *Obstet Gynecol* 1995; 86: 936-40
83. Mesiano S, Chan EC, Fitter JT, Kwek K, Yeo G, Smith R. Progesterone withdrawal and estrogen activation in human parturition are coordinated by progesterone receptor A expression in the myometrium. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2924-30
84. Bennett P, Allport V, Loudon J, Elliott C. Prostaglandins, the fetal membranes and the cervix. *Front Horm Res* 2001; 27: 147-64
85. Allport VC, Pieber D, Slater DM, Newton R, White JO, Bennett PR. Human labour is associated with nuclear factor-kappaB activity which mediates cyclo-oxygenase-2 expression and is involved with the 'functional progesterone withdrawal'. *Mol Hum Reprod* 2001; 7: 581-86
86. Greer I. Cervical ripening. In: Drife J, Calder A, editors. *Prostaglandins and the Uterus*. London: Springer-Verlag, 1992; 191
87. Bennett PR, Elder MG, Myatt L. The effects of lipoxygenase metabolites of arachidonic acid on human myometrial contractility. *Prostaglandins* 1987; 33: 837
88. Wijkvist N, Lindblom B, Wikland M, Wilhelmsson L. Prostaglandins and uterine contractility. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 1983; 113: 23-29
89. Calder AA, Greer IA. Pharmacological modulation of cervical compliance in the first and second trimesters of pregnancy. *Semin Perinatol* 1991; 15: 162-72

90. Romero R, Mazor M, Munoz H, Gomez R, Galasso M, Sherer DM. The preterm labor syndrome. *Ann N.Y Acad Sci* 1994; 734: 414-29
91. Husslein P. Use of prostaglandins for induction of labor. *Semin Perinatol* 1991; 15: 173-81
92. Keirse MJ. Eicosanoids in human pregnancy and parturition. In: Mitchell M, editor. *Eicosanoids in Reproduction*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1990;199
93. Romero R, Emamian M, Wan M, Grzyboski C, Hobbins JC, Mitchell MD. Increased concentrations of arachidonic acid lipoxygenase metabolites in amniotic fluid during parturition. *Obstet Gynecol* 1987; 70: 849-51
94. Romero R, Munoz H, Gomez R, Parra M, Polanco M, Valverde V et al. Increase in prostaglandin bioavailability precedes the onset of human parturition. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1996; 54: 187-91
95. Romero R, Durum S, Dinarello CA, Oyarzun E, Hobbins JC, Mitchell MD. Interleukin-1 stimulates prostaglandin biosynthesis by human amnion. *Prostaglandins* 1989; 37: 13-22
96. Duchesne MJ, Thaler-Dao H, de Paulet AC. Prostaglandin synthesis in human placenta and fetal membranes. *Prostaglandins* 1978; 15: 19-42
97. Okazaki T, Casey ML, Okita JR, MacDonald PC, Johnston JM. Initiation of human parturition. XII. Biosynthesis and metabolism of prostaglandins in human fetal membranes and uterine decidua. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 139: 373-81
98. Hertelendy F, Zakar T. Prostaglandins and the myometrium and cervix. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2004; 70: 207-22
99. Romero R, Mazor M, Manogue K, Oyarzun E, Cerami A. Human decidua: a source of cachectin-tumor necrosis factor. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1991; 41: 123-27
100. Romero R, Wu YK, Oyarzun E, Hobbins JC, Mitchell MD. A potential role for epidermal growth factor/alphatransforming growth factor in human parturition. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1989; 33: 55-60
101. Potestio FA, Zakar T, Olson DM. Glucocorticoids stimulate prostaglandin synthesis in human amnion cells by a receptor-mediated mechanism. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67: 1205-10
102. Myatt L, Lye SJ. Expression, localization and function of prostaglandin receptors in myometrium. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2004; 70: 137-48
103. Coleman RA, Kennedy I, Humphrey PP, Bunce K, Lumley P. In: Hansch C, Sammes GTJB, editors. *Comprehensive Medicinal Chemistry*. Oxford: Pergamon Press, 1990; 643-717
104. Smith GC, Baguma-Nibasheka M, Wu WX, Nathanielsz PW. Regional variations in contractile responses to prostaglandins and prostanoid receptor messenger ribonucleic acid in pregnant baboon uterus. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 1545-52
105. Nathanielsz PW, Smith G, Wu W. Topographical specialization of prostaglandin function in late pregnancy and at parturition in the baboon. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2004; 70: 199-206
106. Luckas MJM, Wray S. A comparison of the contractile properties of human myometrium obtained from the upper and lower uterine segments. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2000; 107: 1309-11
107. Schellenberg JC, Liggins GC. Initiation of labour: uterine and cervical changes, endocrine changes. In: Chard T, Grudzinskas JG, editors. *The Uterus*. Cambridge: Cambridge University Press, 1994; 308-35

108. Mecenas CA, Giussani DA, Owiny JR, Jenkins SL, Wu WX, Honnebier BO et al. Production of premature delivery in pregnant rhesus monkeys by androstenedione infusion. *Nat Med* 1996; 2: 443-48
109. Rees LH, Jack PM, Thomas AL, Nathanielsz PW. Role of foetal adrenocorticotrophin during parturition in sheep. *Nature* 1975; 253: 274-75
110. Liggins G, Fairclough RJ, Grieves SA, et al. Parturition in the sheep. In: Knight J, O'Connor M, editors. *The Fetus and Birth*. Amsterdam: Elsevier, 1977
111. Nathanielsz PW, Jenkins SL, Tame JD, Winter JA, Guller S, Giussani DA. Local paracrine effects of estradiol are central to parturition in the rhesus monkey. *Nat Med* 1998; 4: 456-59
112. Whittle WL, Patel FA, Alfaidy N, Holloway AC, Fraser M, Gyomorey S et al. Glucocorticoid regulation of human and ovine parturition: the relationship between fetal hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation and intrauterine prostaglandin production. *Biol Reprod* 2001; 64: 1019-32
113. Challis JRG, Matthews SG, Gibb W, Lye SJ. Endocrine and paracrine regulation of birth at term and preterm. *Endocrine Reviews* 2000; 21: 514-50
114. Tornblom SA, Patel FA, Bystrom B, Giannoulis D, Malmstrom A, Sennstrom M et al. 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase and cyclooxygenase 2 messenger ribonucleic acid expression and immunohistochemical localization in human cervical tissue during term and preterm labor. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 2909-15
115. Grammatopoulos DK, Hillhouse EW. Role of corticotropin-releasing hormone in onset of labour. *Lancet* 1999; 354: 1546-49
116. Quartero HW, Fry CH. Placental corticotrophin releasing factor may modulate human parturition. *Placenta* 1989; 10: 439-43
117. Yoon BH, Romero R, Jun JK, Maymon E, Gomez R, Mazor M et al. An increase in fetal plasma cortisol but not dehydroepiandrosterone sulfate is followed by the onset of preterm labor in patients with preterm premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 1107-14
118. Osman I, Young A, Ledingham MA, Thomson AJ, Jordan F, Greer IA et al. Leukocyte density and pro-inflammatory cytokine expression in human fetal membranes, decidua, cervix and myometrium before and during labour at term. *Mol Hum Reprod* 2003; 9: 41-45
119. Yellon SM, Mackler AM, Kirby MA. The role of leukocyte traffic and activation in parturition. *J Soc Gynecol Investig* 2003; 10: 323-38
120. Keelan JA, Blumenstein M, Helliwell RJ, Sato TA, Marvin KW, Mitchell MD. Cytokines, prostaglandins and parturition—a review. *Placenta* 2003; 2(A): 33-46
121. Cohen J, Ghezzi F, Romero R, Ghidini A, Mazor M, Tolosa JE et al. GRO alpha in the fetomaternal and amniotic fluid compartments during pregnancy and parturition. *Am J Reprod Immunol* 1996; 35: 23-29
122. Esplin MS, Romero R, Chaiworapongsa T, Kim YM, Edwin S, Gomez R et al. Amniotic fluid levels of immunoreactive monocyte chemoattractant protein-1 increase during term parturition. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2003; 14: 51-56
123. Keelan JA, Yang J, Romero RJ, Chaiworapongsa T, Marvin KW, Sato TA et al. Epithelial cell-derived neutrophil-activating peptide-78 is present in fetal membranes and amniotic fluid at increased concentrations with intra-amniotic infection and preterm delivery. *Biology of Reproduction* 2004; 70: 253-59

124. Van Wagenen G, Newton W.H. Pregnancy in the monkey after removal of the fetus. *Surg Gynecol Obstet* 1943; 77: 539-43
125. Lanman JT, Mitsudo SM, Brinson AO, Thau RB. Fetectomy in monkeys (*Macaca mulatta*): retention of the placenta past normal term *Biol Reprod* 1975; 12: 522-25
126. McLean M, Bisits A, Davies J, Woods R, Lowry P, Smith R. A placental clock controlling the length of human pregnancy. *Nat Med* 1995; 1: 460-63
127. Wadhwa PD, Garite TJ, Porto M, Glynn L, Chicz-DeMet A, Dunkel-Schetter C et al. Placental corticotropin-releasing hormone (CRH), spontaneous preterm birth, and fetal growth restriction: A prospective investigation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2004; 191: 1063-69
128. Leung TN, Chung TKH, Madsen G, McLean M, Chang AMZ, Smith R. Elevated mid-trimester maternal corticotrophin-releasing hormone levels in pregnancies that delivered before 34 weeks. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1999; 106: 1041-46
129. Hobel CJ, Dunkel-Schetter C, Roesch SC, Castro LC, Arora CP. Maternal plasma corticotropin-releasing hormone associated with stress at 20 weeks' gestation in pregnancies ending in preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 257-263
130. McLean M, Smith R. Corticotrophin-releasing hormone and human parturition. *Reproduction* 2001; 121: 493-501
131. Gray DJ, Robinson HB, Malone J, Thomson RB, Jr. Adverse outcome in pregnancy following amniotic fluid isolation of *Ureaplasma urealyticum*. *Prenat Diagn* 1992; 12: 111-17
132. Horowitz S, Mazor M, Romero R, Horowitz J, Glezerman M. Infection of the amniotic cavity with *Ureaplasma urealyticum* in the midtrimester of pregnancy. *J Reprod Med* 1995; 40: 375-79
133. Carroll SG, Papaioannou S, Ntumazah IL, Philpott-Howard J, Nicolaides KH. Lower genital tract swabs in the prediction of intrauterine infection in preterm prelabour rupture of the membranes. *Br J Obstet Gynaecol* 1996; 103: 54-59
134. Romero R, Gomez R, Ghezzi F, Yoon BH, Mazor M, Edwin SS, et al. A fetal systemic inflammatory response is followed by the spontaneous onset of preterm parturition. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 186-93
135. Gomez R, Romero R, Ghezzi F, Yoon BH, Mazor M, Berry SM. The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 194-202
136. Romero R, Mazor M, Wu YK, Sirtori M, Oyarzun E, Mitchell MD, et al. Infection in the pathogenesis of preterm labor. *Semin Perinatol* 1988; 12: 262-79
137. Fidel PL, Jr., Romero R, Wolf N, Cutright J, Ramirez M, Araneda H, et al. Systemic and local cytokine profiles in endotoxin-induced preterm parturition in mice. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170: 1467-75
138. Benedetti TJ, Valle R, Ledger WJ. Antepartum pneumonia in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1982; 144: 413-17
139. Fan YD, Pastorek JG, Miller JM, Jr., Mulvey J. Acute pyelonephritis in pregnancy. *Am J Perinatol* 1987; 4: 324-26
140. Hibbard L, Thrupp L, Summeril S, Smale M, Adams R. Treatment of pyelonephritis in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1967; 98: 609-15
141. Madinger NE, Greenspoon JS, Ellrodt AG. Pneumonia during pregnancy: has modern technology improved maternal and fetal outcome? *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161: 657-62

142. Gomez R, Ghezzi F, Romero R, Munoz H, Tolosa JE, Rojas I. Premature labor and intra-amniotic infection. Clinical aspects and role of the cytokines in diagnosis and pathophysiology. *Clin Perinatol* 1995; 22: 281-342
143. Romero R, Munoz, H, Gomez, R, Ramirez, M, Araneda, H, Cutright, J et al. Antibiotic therapy reduces the rate of infection-induced preterm delivery and perinatal mortality. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170, 390
144. Fidel P, Ghezzi F, Romero R, Chaiworapongsa T, Espinoza J, Cutright J, et al. The effect of antibiotic therapy on intrauterine infection-induced preterm parturition in rabbits. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2003; 14: 57-64
145. Romero R, Oyarzun E, Mazor M, Sirtori M, Hobbins JC, Bracken M. Meta-analysis of the relationship between asymptomatic bacteriuria and preterm delivery/low birth weight. *Obstet Gynecol* 1989; 73: 576-82
146. Romero R, Salafia CM, Athanassiadis AP, Hanaoka S, Mazor M, Sepulveda W, et al. The relationship between acute inflammatory lesions of the preterm placenta and amniotic fluid microbiology. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166: 1382-88
147. Romero R, Espinoza J, Chaiworapongsa T, Kalache K. Infection and prematurity and the role of preventive strategies. *Semin Neonatol* 2002; 7: 259-74
148. Watts DH, Krohn MA, Hillier SL, Eschenbach DA. The association of occult amniotic fluid infection with gestational age and neonatal outcome among women in preterm labor. *Obstet Gynecol* 1992; 79: 351-57
149. Romero R, Gonzalez R, Sepulveda W, Brandt F, Ramirez M, Sorokin Y, et al. Infection and labor. VIII. Microbial invasion of the amniotic cavity in patients with suspected cervical incompetence: prevalence and clinical significance. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 167: 1086-91
150. Yoon BH, Romero R, Kim CJ, Jun JK, Gomez R, Choi JH, et al. Amniotic fluid interleukin-6: a sensitive test for antenatal diagnosis of acute inflammatory lesions of preterm placenta and prediction of perinatal morbidity. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172: 960-7
151. Romero R, Avila C, Santhanam U, Sehgal PB. Amniotic fluid interleukin 6 in preterm labor. Association with infection. *J Clin Invest* 1990; 85: 1392-400
152. 152. Romero R, Yoon BH, Kenney JS, Gomez R, Allison AC, Sehgal PB. Amniotic fluid interleukin-6 determinations are of diagnostic and prognostic value in preterm labor. *Am J Reprod Immunol* 1993; 30: 167-83
153. Berry SM, Gomez, R, Athayde, N, Ghezzi, F, Mazor, M, Yoon, BH et al. The role of granulocyte colony stimulating factor in the neutrophilia observed in the fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 202
154. Romero R, Maymon E, Pacora P, Gomez R, Mazor M, Yoon BH, et al. Further observations on the fetal inflammatory response syndrome: a potential homeostatic role for the soluble receptors of tumor necrosis factor alpha. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: 1070-77
155. Berry SM, Romero R, Gomez R, Puder KS, Ghezzi F, Cotton DB, et al. Premature parturition is characterized by in utero activation of the fetal immune system. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 1315-20
156. Romero R, Durum S, Dinarello CA, Oyarzun E, Hobbins JC, Mitchell MD. Interleukin-1 stimulates prostaglandin biosynthesis by human amnion. *Prostaglandins* 1989; 37: 13-22
157. Romero R, Mazor M, Manogue K, Oyarzun E, Cerami A. Human decidua: a source of cachectin-tumor necrosis factor. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1991; 41: 123-27
158. Casey ML, Cox SM, Beutler B, Milewich L, MacDonald PC. Cachectin/tumor necrosis factor-alpha formation in human decidua. Potential role of cytokines in infection-induced preterm labor. *J Clin Invest* 1989; 83: 430-36

159. Romero R, Brody DT, Oyarzun E, Mazor M, Wu YK, Hobbins JC, et al. Infection and labor. III. Interleukin-1: a signal for the onset of parturition. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 160: 1117-23
160. Romero R, Mazor M, Sepulveda W, Avila C, Copeland D, Williams J. Tumor necrosis factor in preterm and term labor. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166: 1576-87
161. Romero R, Mazor M, Tartakovsky B. Systemic administration of interleukin-1 induces preterm parturition in mice. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 969-71
162. Gomez R, Ghezzi F, Romero R, et al. Two thirds of human fetuses with microbial invasion of the amniotic cavity have a detectable systemic cytokine response before birth. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176: 514
163. Taniguchi T, Matsuzaki N, Kameda T, Shimoya K, Jo T, Saji F, et al. The enhanced production of placental interleukin-1 during labor and intrauterine infection. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 131-37
164. Gomez R, Romero R, Ghezzi F, Yoon BH, Mazor M, Berry SM. The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 194-202
165. Romero R, Gomez R, Ghezzi F, Maymon E, Yoon BH, Mazor M, et al. A novel form of fetal cardiac dysfunction in preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 27
166. Pacora P, Chaiworapongsa T, Maymon E, Kim YM, Gomez R, Yoon BH, et al. Funisitis and chorionic vasculitis: the histological counterpart of the fetal inflammatory response syndrome. *J Matern Fetal Med* 2002; 11: 18-25
167. Yoon BH, Romero R, Park JS, Kim M, Oh SY, Kim CJ, et al. The relationship among inflammatory lesions of the umbilical cord (funisitis), umbilical cord plasma interleukin 6 concentration, amniotic fluid infection, and neonatal sepsis. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: 1124-29
168. Yoon BH, Romero R, Kim KS, Park JS, Ki SH, Kim BI, et al. A systemic fetal inflammatory response and the development of bronchopulmonary dysplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181: 773-79
169. Yoon BH, Romero R, Yang SH, Jun JK, Kim IO, Choi JH, et al. Interleukin-6 concentrations in umbilical cord plasma are elevated in neonates with white matter lesions associated with periventricular leukomalacia. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 1433-40
170. Yoon BH, Romero R, Park JS, Kim CJ, Kim SH, Choi JH, et al. Fetal exposure to an intra-amniotic inflammation and the development of cerebral palsy at the age of three years. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 675-81
171. Romero R, Sepulveda W, Baumann P, Yoon BH, Brandt F, Gomez R et al. The preterm labor syndrome: Biochemical, cytologic, immunologic, pathologic, microbiologic, and clinical evidence that preterm labor is a heterogeneous disease. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168: 288
172. Combs CA, Katz MA, Kitzmiller JL, Brescia RJ. Experimental preeclampsia produced by chronic constriction of the lower aorta: validation with longitudinal blood pressure measurements in conscious rhesus monkeys. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 215-23
173. Arias F, Rodriguez L, Rayne SC, Kraus FT. Maternal placental vasculopathy and infection: two distinct subgroups among patients with preterm labor and preterm ruptured membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168: 585-91
174. Gonen R, Hannah ME, Milligan JE. Does prolonged preterm premature rupture of the membranes predispose to abruptio placentae? *Obstet Gynecol* 1989; 74: 347-50
175. Major C, Nageotte M., Lewis D. Preterm premature rupture of membranes and placental abruption: is there an association between these pregnancy complications? *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164: 38

176. Kim YM, Bujold E, Chaiworapongsa T, Gomez R, Yoon BH, Thaler HT, et al. Failure of physiologic transformation of the spiral arteries in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189: 1063-69
177. Kim YM, Chaiworapongsa T, Gomez R, Bujold E, Yoon BH, Rotmensch S, et al. Failure of physiologic transformation of the spiral arteries in the placental bed in preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187: 1137-42
178. Brar HS, Medearis AL, De Vore GR, Platt LD. Maternal and fetal blood flow velocity waveforms in patients with preterm labor: relationship to outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161: 1519-22
179. Strigini FA, Lencioni G, De Luca G, Lombardo M, Bianchi F, Genazzani AR. Uterine artery velocimetry and spontaneous preterm delivery. *Obstet Gynecol* 1995; 85: 374-77
180. McMaster-Fay RA. Failure of physiologic transformation of the spiral arteries of the uteroplacental circulation in patients with preterm labor and intact membranes. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2004; 191: 1837-38
181. Poisner AM. The human placental renin-angiotensin system. *Front Neuroendocrinol* 1998; 19: 232-52
182. Katz M, Shapiro WB, Porush JG, Chou SY, Israel V. Uterine and renal renin release after ligation of the uterine arteries in the pregnant rabbit. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 136: 676-78
183. Lalanne C, Mironneau C, Mironneau J, Savineau JP. Contractions of rat uterine smooth muscle induced by acetylcholine and angiotensin II in Ca<sup>2+</sup>-free medium. *Br J Pharmacol* 1984; 81: 317-26
184. Campos GA, Guerra FA, Israel EJ. Angiotensin II induced release of prostaglandins from rat uterus. *Arch Biol Med Exp (Santiago)* 1983; 16: 43-49
185. Lockwood CJ, Krikun G, Papp C, Toth-Pal E, Markiewicz L, Wang EY, et al. The role of progesterone regulated stromal cell tissue factor and type-1 plasminogen activator inhibitor (PAI-1) in endometrial hemostasis and menstruation. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 734: 57-79
186. Elovitz MA, Saunders T, Ascher-Landsberg J, Phillippe M. Effects of thrombin on myometrial contractions in vitro and in vivo. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: 799-804
187. Rosen T, Schatz F, Kuczynski E, Lam H, Koo AB, Lockwood CJ. Thrombin-enhanced matrix metalloproteinase-1 expression: a mechanism linking placental abruption with premature rupture of the membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2002; 11: 11-17
188. Lockwood CJ, Krikun G, Aigner S, Schatz F. Effects of thrombin on steroid-modulated cultured endometrial stromal cell fibrinolytic potential. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 107-12
189. Lijnen HR. Matrix metalloproteinases and cellular fibrinolytic activity. *Biochemistry (Mosc)* 2002; 67: 92-98
190. Chaiworapongsa T, Espinoza J, Yoshimatsu J, Kim YM, Bujold E, Edwin S, et al. Activation of coagulation system in preterm labor and preterm premature rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2002; 11: 368-73
191. Gomez R, Athayde N, Pacora P, Mazor M, Yoon BH, Romero R. Increased Thrombin in Intrauterine Inflammation. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 62
192. Rosen T, Kuczynski E, O'Neill LM, Funai EF, Lockwood CJ. Plasma levels of thrombin-antithrombin complexes predict preterm premature rupture of the fetal membranes. *J Matern Fetal Med* 2001; 10:297-300

193. Nagy S, Bush M, Stone J, Lapinski RH, Gardo S. Clinical significance of subchorionic and retroplacental hematomas detected in the first trimester of pregnancy. *Obstet Gynecol* 2003; 102: 94-100
194. Signore CC, Sood AK, Richards DS. Second-trimester vaginal bleeding: correlation of ultrasonographic findings with perinatal outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 336-40
195. Williams MA, Mittendorf R, Lieberman E, Monson RR. Adverse infant outcomes associated with first-trimester vaginal bleeding. *Obstet Gynecol* 1991; 78: 14-18
196. Besinger R, Carlson N. The physiology of preterm labor. In: Keith L, Papiernik E, Keith D, Luke B, editors. *Multiple Pregnancy: Epidemiology, Gestation and Perinatal Outcome*. London: Parthenon Publishing, 1995; 415
197. Ludmir J, Samuels P, Brooks S, Mennuti MT. Pregnancy outcome of patients with uncorrected uterine anomalies managed in a high-risk obstetric setting. *Obstet Gynecol* 1990; 75: 906-10
198. Phelan JP, Park YW, Ahn MO, Rutherford SE. Polyhydramnios and perinatal outcome. *J Perinatol* 1990; 10: 347-50
199. Manabe Y, Sagawa N, Mori T. Fetal viability does not affect the onset of stretch-induced labor and the increase in amniotic fluid prostaglandin F2 alpha and plasma prostaglandin F2 alpha metabolite levels. *Prostaglandins* 1992; 44: 119-28
200. Ou CW, Chen ZQ, Qi S, Lye SJ. Increased expression of the rat myometrial oxytocin receptor messenger ribonucleic acid during labor requires both mechanical and hormonal signals. *Biol Reprod* 1998; 59: 1055-61
201. Ou CW, Orsino A, Lye SJ. Expression of connexin-43 and connexin-26 in the rat myometrium during pregnancy and labor is differentially regulated by mechanical and hormonal signals. *Endocrinology* 1997; 138: 5398-407
202. Mitchell JA, Lye SJ. Regulation of connexin43 expression by c-fos and c-jun in myometrial cells. *Cell Commun Adhes* 2001; 8: 299-302
203. Oldenhof AD, Shynlova OP, Liu M, Langille BL, Lye SJ. Mitogen-activated protein kinases mediate stretch-induced c-fos mRNA expression in myometrial smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 283: C1530- C1539
204. Shynlova OP, Oldenhof AD, Liu M, Langille L, Lye SJ. Regulation of c-fos expression by static stretch in rat myometrial smooth muscle cells. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186: 1358-65
205. Lye SJ, Mitchell J, Nashman N, Oldenhof A, Ou R, Shynlova O, et al. Role of mechanical signals in the onset of term and preterm labor. *Front Horm Res* 2001; 27: 165-78
206. Maradny EE, Kanayama N, Halim A, Maehara K, Terao T. Stretching of fetal membranes increases the concentration of interleukin-8 and collagenase activity. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 843-49
207. Kanayama N, Fukamizu H. Mechanical stretching increases prostaglandin E2 in cultured human amnion cells. *Gynecol Obstet Invest* 1989; 28: 123-26
208. Millar LK, Stollberg J, DeBuque L, Bryant-Greenwood G. Fetal membrane distention: determination of the intrauterine surface area and distention of the fetal membranes preterm and at term. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 128-34
209. Nemeth E, Millar LK, Bryant-Greenwood G. Fetal membrane distention: II. Differentially expressed genes regulated by acute distention in vitro. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 60-67
210. Aksel S. Immunologic aspects of reproductive diseases. *JAMA* 1992; 268: 2930-34



211. McLean JM. Early embryo loss. *Lancet* 1987; 1: 1033-34
212. Benirschke K, Kaufmann P. Villitis of unknown etiology. In: Benirschke K, Kaufmann P, editors. *Pathology of the Human Placenta*. New York: Springer-Verlag, 1995; 596
213. Romero R, Sepulveda, W, Baumann, P, Yoon, BH, Brandt, F, Gomez, R et al. The preterm labor syndrome: Biochemical, cytologic, immunologic, pathologic, microbiologic, and clinical evidence that preterm labor is a heterogeneous disease. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168, 288
214. Souillou JP, Peyronnet P, Le Mauff B, Hourmant M, Olive D, Mawas C, et al. Prevention of rejection of kidney transplants by monoclonal antibody directed against interleukin 2. *Lancet* 1987; 1: 1339-42
215. Romero R, Mazor, M, Avila, C, et al. Uterine "allergy": A novel mechanism for preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164, 375
216. Rudolph MI, Reinicke K, Cruz MA, Gallardo V, Gonzalez C, Bardisa L. Distribution of mast cells and the effect of their mediators on contractility in human myometrium. *Br J Obstet Gynaecol* 1993; 100: 1125-30
217. Rudolph MI, Bardisa L, Cruz MA, Reinicke K. Mast cells mediators evoke contractility and potentiate each other in mouse uterine horns. *Gen Pharmacol* 1992; 23: 833-36
218. Bytautiene E, Romero, R, Vedernikov, Y, Saade, G, Garfield, R. An allergic reaction can induce premature labor and delivery, which can be prevented by treatment with antihistaminics and chromolyn sodium. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191(4): 1356-61
219. Iams JD, Johnson FF, Sonek J, Sachs L, Gebauer C, Samuels P. Cervical competence as a continuum: a study of ultrasonographic cervical length and obstetric performance. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172: 1097-103
220. Romero R, Mazor M, Gomez R. Cervix, incompetence and premature labor. *Fetus* 1993; 3:1
221. Annos T, Thompson IE, Taymor ML. Luteal phase deficiency and infertility: difficulties encountered in diagnosis and treatment. *Obstet Gynecol* 1980; 55: 705-10
222. Jones GS. Luteal phase defect: a review of pathophysiology. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1991; 3: 641-48
223. Balasch J, Vanrell JA. Corpus luteum insufficiency and fertility: a matter of controversy. *Hum Reprod* 1987; 2: 557-67
224. McNeely MJ, Soules MR. The diagnosis of luteal phase deficiency: a critical review. *Fertil Steril* 1988; 50: 1-15
225. Daya S, Ward S, Burrows E. Progesterone profiles in luteal phase defect cycles and outcome of progesterone treatment in patients with recurrent spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158: 225-32
226. Daya S. Efficacy of progesterone support in the luteal phase following in-vitro fertilization and embryo transfer: meta-analysis of clinical trials. *Hum Reprod* 1988; 3: 731-34
227. Pritts EA, Atwood AK. Luteal phase support in infertility treatment: a meta-analysis of the randomized trials. *Hum Reprod* 2002; 17: 2287-99
228. Fidel PI, Jr., Romero R, Maymon E, Hertelendy F. Bacteria-induced or bacterial product-induced preterm parturition in mice and rabbits is preceded by a significant fall in serum progesterone concentrations. *J Matern Fetal Med* 1998; 7: 222-26

229. Belt AR, Baldassare JJ, Molnar M, Romero R, Hertelendy F. The nuclear transcription factor NF-kappaB mediates interleukin-1beta-induced expression of cyclooxygenase- 2 in human myometrial cells. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181: 359-66
230. Lappas M, Permezel M, Georgiou HM, Rice GE. Nuclear factor kappa B regulation of proinflammatory cytokines in human gestational tissues in vitro. *Biol Reprod* 2002; 67: 668-73
231. Allport VC, Pieber D, Slater DM, Newton R, White JO, Bennett PR. Human labour is associated with nuclear factor-kappaB activity which mediates cyclo-oxygenase-2 expression and is involved with the 'functional progesterone withdrawal'. *Mol Hum Reprod* 2001; 7: 581-86
232. Skinner SJ, Liggins GC. Glycosaminoglycans and collagen in human amnion from pregnancies with and without premature rupture of the membranes. *J Dev Physiol* 1981; 3:111-21
233. McLaren J, Malak TM, Bell SC. Structural characteristics of term human fetal membranes prior to labour: identification of an area of altered morphology overlying the cervix. *Hum Reprod* 1999; 14: 237-41
234. Malak TM, Bell SC. Structural characteristics of term human fetal membranes: a novel zone of extreme morphological alteration within the rupture site. *Br J Obstet Gynaecol* 1994; 101: 375-86
235. Bell SC, Pringle JH, Taylor DJ, Malak TM. Alternatively spliced tenascin-C mRNA isoforms in human fetal membranes. *Mol Hum Reprod* 1999; 5: 1066-76
236. Malak TM, Mulholland G, Bell SC. Morphometric characteristics of the decidua, cytotrophoblast, and connective tissue of the prelabor ruptured fetal membranes. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 734: 430-32
237. Bryant-Greenwood GD. The extracellular matrix of the human fetal membranes: structure and function. *Placenta* 1998; 19: 1-11
238. Iams JD, Casal D, McGregor JA, Goodwin TM, Kreaden US, Lowensohn R, et al. Fetal fibronectin improves the accuracy of diagnosis of preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 141-45
239. Nageotte MP, Casal D, Senyei AE. Fetal fibronectin in patients at increased risk for premature birth. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170: 20-25
240. Oshiro B, Edwin S, Silver R. Human fibronectin and human tenascin production in human amnion cells. *J Soc Gynecol Invest* 1996; 3, 351A
241. Maymon E, Romero R, Pacora P, Gervasi MT, Bianco K, Ghezzi F, et al. Evidence for the participation of interstitial collagenase (matrix metalloproteinase 1) in preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: 914-20
242. Maymon E, Romero R, Pacora P, Gomez R, Athayde N, Edwin S, et al. Human neutrophil collagenase (matrix metalloproteinase 8) in parturition, premature rupture of the membranes, and intrauterine infection. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: 94-99
243. Helmig BR, Romero R, Espinoza J, Chaiworapongsa T, Bujold E, Gomez R, et al. Neutrophil elastase and secretory leukocyte protease inhibitor in prelabor rupture of membranes, parturition and intra-amniotic infection. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2002; 12: 237-46
244. Everts V, van der ZE, Creemers L, Beertsen W. Phagocytosis and intracellular digestion of collagen, its role in turnover and remodelling. *Histochem J* 1996; 28: 229-45
245. Lei H, Furth EE, Kalluri R, Chiou T, Tilly KI, Tilly JL, et al. A program of cell death and extracellular matrix degradation is activated in the amnion before the onset of labor. *J Clin Invest* 1996; 98: 1971-78

246. Fortunato SJ, Menon R, Bryant C, Lombardi SJ. Programmed cell death (apoptosis) as a possible pathway to metalloproteinase activation and fetal membrane degradation in premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 1468-76
247. Fortunato SJ, Menon R, Lombardi SJ. Support for an infection-induced apoptotic pathway in human fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184: 1392-97
248. Clayton D, McKeigue PM. Epidemiological methods for studying genes and environmental factors in complex diseases. *Lancet* 2001; 358: 1356-60
249. Tired L. Gene-environment interaction: a central concept in multifactorial diseases. *Proc Nutr Soc* 2002; 61: 457-63
250. Macones G, Parry S, Elkousy M, Clothier B, Ural SH, Strauss JF, III. A polymorphism in the promoter region of TNF and bacterial vaginosis: preliminary evidence of gene-environment interaction in the etiology of spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2003
251. Roberts AK, Monzon-Bordonaba F, Van Deerlin PG, Holder J, Macones GA, Morgan MA, et al. Association of polymorphism within the promoter of the tumor necrosis factor alpha gene with increased risk of preterm premature rupture of the fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:1297-302
252. Hill J.A. Cytokines in Human Reproduction. John Wiley & Sons, Harvard 1999
253. Plata-Salaman C.R. et al. Cytokine-induced fever in obese (fa/fa) and lean (Fa/Fa) Zucker rats. *Am J Physiol* 1998; 275/4: 1353-1357
254. Bazan J.F. et al. A newly defined interleukin-1? *Nature* 1996 ; 15/379: 591-592
255. Kohno K. et al. Interleukin 18, a cytokine which resembles IL-1structurally and IL-12 functionally but exerts its effect independently of both. *Clin Immunol Immunopathol* 1998; 86/1: 11-15
256. Hu J. et al. Differential regulation of gap junctions by proinflammatory mediators in vitro. *J Clin Invest* 1997; 10: 2312-2316
257. Dinarello C.A. et al. The role of the interleukin-1-receptor antagonist in blocking inflammation mediated by interleukin-1. *N Engl J Med* 2000; 343/10: 732-734
258. Brown M.A. et al. The combination of endotoxin and dexamethasone induces type II interleukin 1 receptor (IL-1r II) in monocytes: a comparison to interleukin 1 beta (IL-1 beta) and interleukin 1 receptor antagonist (IL-1ra). *Cytokine* 1996; 8/11: 828-836
259. Wewers M.D. et al. Endotoxin-stimulated monocytes release multiple forms of IL-1 beta, including a proIL-1 beta form whose detection is affected by export. *J Immunol* 1999; 162/8: 4858-4863
260. Stites D.P. Osnovna i klinička imunologija. Savremena administracija, Beograd 1989
261. Dinarello C.A. et al. Proinflammatory cytokines. *Chest* 2000; 118/2: 503-508
262. Sunder S. et al. Endocrinology of the peri-implantation period. *Res Clin Obstet Gynaecol* 2000t; 14/5: 789-800
263. Saji F. et al. Cytokine production in chorioamnionitis. *J Reprod Immunol* 2000; 47/2: 185-196
264. Glumoff V. et al. Degree of lung maturity determines the direction of the interleukin-1-induced effect on the expression of surfactant proteins. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 22/3: 280-288

265. Smyh K.A. Interleukin-2. *Curr Opin Immunol* 1992; 4/3: 271-276
266. Henney C.S. et al. Cytotoxic responses: the regulatory influence of interleukin-2. *Transplant Proc* 1982; 14/3: 565-569
267. Henney et al. Interleukin-2 augments natural killer cell activity. *Nature* 1981; 291/5813: 335-338
268. Lala P.K. et al. Activation of maternal killer cells in the pregnant uterus with chronic indometacin therapy, IL-2 therapy, or a combination therapy is associated with embryonic demise. *Cell Immunol* 1990; 127/2: 368-381
269. Bubanović i sar. Efekti indometacina na alogenu i singenu trudnoću. *Zbornik radova XLV Ginekološko-akušerske nedelje* 2001; 531-537
270. Emond V. et al. Prostaglandin E2 regulates both interleukin-2 and granulocyte-macrophage colony stimulating factor gene expression in bovine lymphocytes. *Biol Reprod* 1988; 58/1: 143-151
271. Scaffidi C. et al. Apoptosis signaling in lymphocytes. *Curr Opin Immunol* 1999 Jun; 11/3: 277-285
272. Shimaoka Y. et al. Changes in cytokine production during and after normal pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2000; 44/3:143-147
273. Raghupathy R. et al. Th1 and Th2 cytokine profiles in successful pregnancy and unexplained recurrent abortions. In: Gupta S.K. *Reproductive Immunology*. Kluwer Academic Publisher, Norsa Publishing House, Delhi 2000; 149-166
274. Chaouat G. et al. Localisation of the Th2 cytokines IL-3, IL-4, IL-10 at the murine fetomaternal interface during pregnancy. In: Gupta S.K. *Reproductive Immunology*. Kluwer Academic Publisher, Norsa Publishing House, Delhi 2000; 61-70
275. Howard C. et al. Maternal alloimmune stimulation: Variable actions. In: Gupta S.K. *Reproductive Immunology*. Kluwer Academic Publisher, Norsa Publishing House, Delhi 2000; 205-217
276. Hirai K. et al. Enhancement of human basophil histamine release by interleukin 5. *J Exp Med* 1990; 172/5: 1525-1528
277. Takatsu K. Cytokines involved in B-cell differentiation and their sites of action. *Proc Soc Exp Biol Med* 1997; 215/2: 121-133
278. Kelly R.W. et al. Immunomodulation by human seminal plasma: benefit for spermatozoon and pathogen. *Hum Reprod* 1997; 12: 2200-2207
279. Hibi M. et al. IL-6 cytokine family and signal transduction: a model of the cytokine system. *J Mol Med* 1996; 74/1: 1-12
280. Taga T et al. Interleukin-6 receptor and signals. *Chem Immunol* 1992; 51: 181-204
281. Saito S. Cytokine network at the fetomaternal interface. *J Reprod Immunol* 2000; 47/2: 87-103
282. Saito S. Cytokine network in the human decidua. In: Gupta S.K. *Reproductive Immunology*. Kluwer Academic Publisher, Norsa Publishing House, Delhi 2000; 78-87
283. Chandana D. et al. Immunomodulators in human trophoblast-uterus cross talk: Cytokines, growth factors and nitric oxide. In: Gupta S.K. *Reproductive Immunology*. Norsa Publishing House, Delhi 1999; 99-109

284. Agarwal R. et al. Effect of T-helper 1 cytokines on secretion of T- helper 2 cytokines by term trophoblast cells in culture. *Gynecol Endocrinol* 2000; 14/5: 305-310
285. Hayakawa S. et al. Effects of paternal lymphocyte immunization on peripheral Th1/Th2 balance and TCR V beta and V gamma repertoire usage of patients with recurrent spontaneous abortions. *Am J Reprod Immunol* 2000; 43/2: 107-115
286. von Minckwitz G. et al. Predictive value of serum interleukin-6 and -8 levels in preterm labor or rupture of the membranes. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2000; 79/8: 667-672
287. Gazvani M.R. et al. Follicular fluid concentrations of interleukin-12 and interleukin-8 in IVF cycles. *Fertil Steril* 2000; 74/5: 953-958
288. Winkler M. et al. Regulation of interleukin-8 synthesis in human lower uterine segment fibroblasts by cytokines and growth factors. *Obstet Gynecol* 2000; 95/4: 584-588
289. Plum J. et al. Interleukin-7 is a critical growth factor in early human T-cell development. *Blood* 1996; 88/11: 4239-4245
290. Holbrook S.T. et al. Effect of interleukin-9 on clonogenic maturation and cell-cycle status of fetal and adult hematopoietic progenitors. *Blood* 1991; 77/10: 2129-2134
291. Cohen S.B. et al. Autocrine and paracrine regulation of human T cell IL-10 production. *Journal of Immunology* 1997; 158/12: 5596-5602
292. Bulpitt K. et al. Clinical Trials: Summary of a study on interleukin-10 plus methotrexate to treat rheumatoid arthritis. University of California (LA) Clinical Trials 2000
293. Chabot S. et al. Mechanisms of IL-10 Production in Human Microglia- T Cell Interaction. *J Immunol* 1999; 162: 6819-6828
294. Groux H. et al. A transgenic model to analyze the immunoregulatory role of IL-10 secreted by antigen-presenting cells. *J Immunol* 1999; 162: 1723-1729
295. Yue H.S. A receptor for interleukin 10 is related to interferon receptors. *Proc Nat Acad Sci USA* 1993; 90: 11267-11271
296. Simpson K.L. et al. Labor-Associated Changes in Interleukin-10 Production and Its Regulation by Immunomodulators in Human Choriondecidua. *J Endocrinol Metabol* 1999; 83/12: 4332-4337
297. Makhseed M. et al. Circulating cytokines and CD30 in normal human pregnancy and recurrent spontaneous abortions. *Hum Reprod* 2000; 15/9: 2011-2017
298. Jenkins C. et al. Evidence of a T(H) 1 type response associated with recurrent miscarriage. *Fertil Steril* 2000; 73/6: 1206-1208
299. Hanna N. et al. Gestational age-dependent expression of IL-10 and its receptor in human placental tissues and isolated cytotrophoblasts. *J Immunol* 2000; 164/11: 5721-5728
300. Zhou X. et al. Role of IL-12 in macrophage activation during intracellular infection: IL-12 and mycobacteria synergistically release TNF- $\alpha$  and nitric oxide from macrophages via IFN-g induction. *J Leuko Biol* 2000; 68: 897-902

301. Saito S. et al. IL-4 blocks the IL-12 induced increase in natural killer activity and DNA synthesis of decidual CD16-CD56 bright+ NK cells by inhibiting expression of the IL-2R $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$ . *Cell Immunol* 1996; 170: 71- 77
302. Enskog A. et al. Low peripheral blood levels of the immunosuppressive cytokine interleukin 10 (IL-10) at the start of gonadotrophin stimulation indicates increased risk for development of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS). *J Reprod Immunol* 2001; 49/1: 71-85
303. Williams T.J. et al. Fetal and neonatal IL-13 production during pregnancy and at birth and subsequent development of atopic symptoms. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105/5: 951-959
304. Ford R. et al. Identification of B-cell growth factors (interleukin-14; high molecular weight-B-cell growth factors) in effusion fluids from patients with aggressive B-cell lymphomas. *Blood* 1995; 86/1: 283-293
305. Ambrus J.L. et al. Identification of a cDNA for a human high- molecular-weight B-cell growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90/13: 6330-6334
306. Pettit D.K. et al. Structure-function studies of interleukin 15 using site-specific mutagenesis, polyethylene glycol conjugation, and homology modeling. *J Biol Chem* 1997; 272/4: 2312-8231
307. Giri J.G. Utilization of the beta and gamma chains of the IL-2 receptor by the novel cytokine IL-15. *EMBO J* 1994; 13/12: 2822-2830
308. Agrawal R. et al. Expression profiles of interleukin-15 in early and late gestational human placenta and in pre-eclamptic placenta. *Mol Hum Reprod* 2001; 7/1: 97-101
309. Okada S. et al. Expression of interleukin-15 in human endometrium and decidua. *Mol Hum Reprod* 2000; 6/1: 75-80
310. Nicoll J. et al. Identification of domains in IL-16 critical for biological activity. *J Immunol* 1999; 163/4: 1827-1832
311. Kruikshank W.W. et al. Signaling and functional properties of interleukin-16. *Int Rev Immunol* 1998; 16/5-6: 523-540
312. Athayade N. et al. Interleukin 16 in pregnancy, parturition, rupture of fetal membranes, and microbial invasion of the amniotic cavity. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 135-141
313. Broxmeyer H.E. Is interleukin 17, an inducible cytokine that stimulates production of other cytokines, merely a redundant player in a sea of other biomolecules? *J Exp Med* 1996; 183/6: 2411-2415
314. Nakanishi K et al. Interleukin-18 is a unique cytokine that stimulates both Th1 and Th2 responses depending on its cytokine milieu. *Cytokine Growth Factor Rev* 2001; 12/1: 53-72
315. Nakanishi K et al. Interleukin-18 regulates both th1 and th2 responses. *Annu Rev Immunol* 2001;19:423-474
316. Eberl M. et al. IL-18 potentiates the adjuvant properties of IL-12 in the induction of a strong Th1 type immune response against a recombinant antigen. *Vaccine* 2000; 18/19: 2002-2008
317. Ida A. et al. IL-18 in pregnancy; the elevation of IL-18 in maternal peripheral blood during labor and complicated pregnancies. *J Report Immune* 2000; 47/1: 65-74
318. Tao GAZE. et al. Interferon gamma signaling alters the function of T helper type 1 cells. *J Exp Med* 2000; 192/7: 977-986
319. Perris A. et al. Lack of interferon gamma receptor beta chain and the prevention of interferon gamma signaling in TH1 cells. *Science* 1995; 269/5221: 245-247

320. Martal J. et al. Recent developments and potentialities for reducing embryo mortality in ruminants: the role of IFN-tau and other cytokines in early pregnancy, *J Immunol* 1985; 134/1: 172-176
321. Assal-Meliani A. et al. In vivo immunosuppressive effect of recombinant ovine interferon-tau (trophoblastin): r. oTP (r.oIFN-tau) inhibits local GVH reaction in mice (PLN assay), prevents fetal resorptions, and favors embryo survival and implantation in the CBA/JXDBA/2 mice combination, *Am J Reprod Immunol* 1995; 33/3: 267-275
322. Tekin S. et al. Differences in lymphocyte-regulatory activity among variants of ovine IFN-tau. *J Interferon Cytokine Res* 2000; 20/11: 1001- 1005
323. Carswell E.A. et al. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975; 72/9: 3666-3670
324. Pennica D. et al. Human tumor necrosis factor: precursor structure, expression and homology to lymphotoxin. *Nature* 1984; 312/5996: 724-729
325. Beutler B.A. The role of tumor necrosis factor in health and disease. *J Rheumatol* 1999; 57: 16-21
326. Beutler B.A. et al. TNF, apoptosis and autoimmunity: a common thread? *Blood Cells Mol Dis* 1998; 24/2: 216-230
327. Aggarwall B.B. Tumor necrosis factors receptor associated signaling molecules and their role in activation of apoptosis, JNK and NF-kappa B. *Ann Rheum Dis* 2000; 59/1: 6-16
328. Ware C.F. et al. Apoptosis mediated by the TNF-related cytokine and receptor families. *J Cell Biochem* 1996; 60/1: 47-55
329. Knofler M. et al. TNF-alpha/TNFR1 in primary and immortalized first trimester cytotrophoblasts. *Placenta* 2000; 21/5-6: 525-535
330. Bischof P. et al. Mechanisms of endometrial control of trophoblast invasion. *J Reprod Fertil Suppl* 2000; 55/2: 65-71
331. Leszczynska-Gorzela B. et al. Immunologiczne aspekty nadcisnienia w ciąży. *Ginekol Pol* 2000; 71/6: 448-463
332. Vadiola Ortega F. et al. Apoptosis in trophoblast of patients with recurrent spontaneous abortion of unidentified cause. *Ginecol Obstet Mex* 2000; 68/11: 122-131
333. Hilton D.J. LIF: lots of interesting functions. *Trends Biochem Sci* 1992; 17/2: 72-76
334. Cullinan E.B et al. Leukemia inhibitory factor (LIF) and LIF receptor expression in human endometrium suggests a potential autocrine/paracrine function in regulating embryo implantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93/7: 3115-3120
335. Stewart et al. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukemia inhibitory factor. *Nature* 1992; 359: 76-79
336. Sharkey A.M. et al. Localization of leukemia inhibitory factor and its receptor in human placenta throughout pregnancy. *Biol Reprod* 1999; 60/2: 355-364
337. Senturk L.M. et al. Leukemia inhibitory factor in human reproduction. *Am J Reprod Immunol* 1998; 39/2: 144-151
338. Arici A. et al. Leukaemia inhibitory factor expression in human follicular fluid and ovarian cells. *Hum Reprod* 1997; 12/6: 1233-1239

339. Schilling B. et al. Transforming growth factor-beta(1), -beta(2), - beta(3) and their type I and II receptors in human term placenta. *Gynecol Obstet Invest* 2000; 50/1: 19-23
340. Slater M. et al. Transforming growth factors alpha and beta-1 are co- expressed in the uterine epithelium during early pregnancy. *Cell Tissue Res* 2000; 300/2: 315-320
341. Clark D.A. et al. Transforming growth factor-fl related suppressor factor in mammalian pregnancy decidua; homologies between the mouse and human in successful pregnancy and in recurrent unexplained abortion Clloque. *INSERM* 1991; 212: 71-79
342. Bluestone J.A. et al. Repertoire development and ligand specificity of murine TCR gamma delta cells. *Immunol Rev* 1991; 120: 5-10
343. Ditzian-Kadanoff R. et al. T cells in human decidua. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168: 831-836
344. Clark D.A. et al. Decidua associated suppressor cells in abortion-Pron DBA/mated CBA/2mated CBA/J mice that release bioactive transforming growth factor beta2-related immunosuppressive molecules express a bone marrow-derived natural suppressor cell marker and gamma delta T-cell receptor. *Biol Repord* 1997; 56/5: 1351-1360
345. Del Gobbo V. et al. The immunosuppressive cytokines influence the fetal survival in patients with pregnancy-induced hypertension. *Am J Reprod Immunol* 2000; 44/4: 214-221
346. Hennessy A. et al. A Deficiency of Placental IL-10 in Preeclampsia. *J Immunol* 1999; 163: 3491-3495
347. Ng PC, Li K, Wong RP, Chui K, Wong E, Li G, Fok TF. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokine responses in preterm infants with systemic infections. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2003; 88: F209-213
348. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med* 2000; 18; 342: 1500-1507
349. Jacobsson B, Mattsby-Baltzer I, Andersch B, Bokstrom H, Holst RM, Nikolaitchouk N, Wennerholm UB, Hagberg H. Microbial invasion and cytokine response in amniotic fluid in a Swedish population of women with preterm prelabor rupture of membranes. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2003; 82: 423-431
350. Romero R, Yoon BH, Mazor M, Gomez R, Gonzalez R, Diamond MP, et al. A comparative study of the diagnostic performance of amniotic fluid glucose, white blood cell count, interleukin-6 and gram stain in the detection of microbial invasion in patients with preterm premature rupture of membranes. *AJOG* 1993; 169: 839- 851
351. Gomez R, Romero R, Ghezzi F, Yoon BH, Mazor M, Berry SM. The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 194-202
352. Romero R, Gomez R, Ghezzi F, et al. A fetal systemic inflammatory response is followed by the spontaneous onset of preterm parturition. *AJOG* 1998; 179: 186-193
353. Bell, MJ, Hallenbeck JM, Gallo V. Determining the Fetal Inflammatory Response in an Experimental Model of Intrauterine Inflammation in Rats. *Pediatr Res* 2004
354. Yoon BH, Kim CJ, Romero R, et al. Experimentally induced intrauterine infection causes fetal brain white matter lesions in rabbits. *AJOG* 1997a; 177: 797-802
355. Wu YW, Colford JM. Chorio-amnionitis as a risk factor for cerebral palsy: A meta-analysis. *JAMA* 2000; 284: 1417-1424



356. Kadhim H, Tabarki B, Verellen G, De Prez C, Rona AM, Sebire G. Inflammatory cytokines in the pathogenesis of periventricular leukomalacia. *Neurology* 2001; 56: 1278-1284
357. Shalak LF, Luptook AR, Jafri HS, Ramilo O, Perlman JM. Clinical chorio-amnionitis, elevated cytokines, and brain injury in term infants. *Pediatrics* 2002; 110: 673-680
358. Leviton A, Paneth N, Reuss ML, et al. Maternal infection, fetal inflammatory response, and brain damage in very low birth weight infants. *Developmental Epidemiology Network Investigators. Pediatr Res* 1999a; 46: 566-575
359. Eklind S, Mallard C, Leverin AL, et al. Bacterial endotoxin sensitizes the immature brain to hypoxicischaemic injury. *Eur J Neurosci* 2001; 13: 1101-1106
360. Bona E, Andersson AL, Blomgren K, et al. Chemokine and inflammatory cell response to hypoxia-ischemia in immature rats. *Pediatr Res* 1999; 45: 500-509
361. Loddick SA, Rothwell NJ. Mechanisms of tumor necrosis factor alpha action on neurodegeneration: interaction with insulin-like growth factor-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 9449-9451
362. Dammann O, Durum SK, Leviton A. Modification of infection-associated risks of preterm birth and white matter damage in the preterm newborn by polymorphisms in the tumor necrosis factor locus? *Pathogenesis* 1999; 1: 171-177
363. Hagberg H, Wennerholm UB, Sävman K. Sequelae of chorio-amnionitis. *Current Opinion Inf Dis* 2002; 15: 301-306
364. Jobe AH. Antenatal factors and the development of bronchopulmonary dysplasia. *Sem Neonatol* 2003; 8: 9-17
365. Toti P, De Felice C, Stumpo M, et al. Acute thymic involution in fetuses and neonates with chorioamnionitis. *Hum Pathol* 2000; 31: 1121-1128
366. Yoon BH, Romero R, Park JS, et al. The relationship among inflammatory lesions of the umbilical cord (funisitis), umbilical cord plasma interleukin 6 concentration, amniotic fluid infection, and neonatal sepsis. *AJOG* 2000; 183: 1124-1129
367. Romagnoli C, Frezza S, Cingolani A, De Luca A, Puopolo M, De Carolis MP, Vento G, Antinori A, Tortorolo G. Plasma levels of interleukin-6 and interleukin-10 in preterm neonates evaluated for sepsis. *Eur J Pediatr* 2001;160:345-350
368. Martinez-Tallo E, Claure N, Bancalari E. Necrotizing enterocolitis in full-term or near-term infants: risk factors. *Biol Neonate* 1997; 71: 292-298
369. Dvorak B, Halpern MD, Holubec H et al. Maternal milk reduces severity of necrotizing enterocolitis and increases intestinal IL-10 in a neonatal rat model. *Ped Research* 2003; 53: 426-433
370. Neish AS, Gewirtz AT, Zeng H, et al. Prokaryotic regulation of epithelial responses by inhibition of IkappaB-alpha ubiquitination. *Science* 2000; 289: 1560-1563
371. Bry K, Lappalainen U, Hallman M. Intra-amniotic interleukin-1 accelerates surfactant protein synthesis in fetal rabbits and improves lung stability after premature birth. *J Clin Invest* 1997; 99: 2992-2999
372. Costeloe K, Hennessy E, Gibson AT, Marlow N, Wilkinson AR. The EPICure study: outcomes to discharge from hospital for infants born at the threshold of viability. *Pediatrics* 2000; 106: 659-671
373. Willet KE, Kramer BW, Kallapur SG, et al. Intra-amniotic injection of IL-1 induces inflammation and maturation in fetal sheep lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 282: 411-420

374. Speer CP. New insights into the pathogenesis of pulmonary inflammation in preterm infants. *Biol Neonate* 2001; 79: 205-209
375. Van Marter LJ, Dammann O, Allred EN, Leviton A et al. Chorioamnionitis, mechanical ventilation, and postnatal sepsis as modulators of chronic lung disease in preterm infants. *J Pediatr* 2002; 140: 171-176
376. Kramer BW, Ikegami M, Jobe AH. Intratracheal endotoxin causes systemic inflammation in ventilated preterm lambs. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 463-469
377. De Dooy JJ, Mahieu LM, Van Bever HP. The role of inflammation in the development of chronic lung disease in neonates. *Eur J Pediatr* 2001; 160: 457-463
378. Blahnik MJ, Ramanathan R, Riley CR, Mino P. Lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor- $\alpha$  and IL-10 production by lung macrophages from preterm and term neonates. *Pediatr Res*. 2001; 50: 726-731
379. Marek A, Brodzicki J, Liberek A, Korzon M. TGF- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ) in chronic inflammatory conditions – a new diagnostic prognostic marker? *Med Sci Monit* 2002; RA145-151
380. Mechoulam H, Pierce EA. Retinopathy of prematurity: molecular pathology and therapeutic strategies. *Am J Pharmacogenomics* 2003; 3: 261-277
381. Dammann O, Kuban K, Leviton A. Perinatal infection, fetal inflammatory response, white matter damage, and cognitive limitations in children born preterm. *Ment Ret Dev Disab Res Rev* 2002; 8: 46-50
382. Palmer C, Roberts RL, Towfighi J, Housman C. Endotoxin pre-treatment protects neonatal rats from hypoxic ischemic brain injury. *Pediatr Res* 2001; 49: 122A
383. Mittendorf R, Covert R, Montag A et al. Association between fetal inflammatory response syndrome and bronchopulmonary dysplasia. *Ped Research* 2003; 53: 387A
384. Yoon BH, Romero R, Moon JB, et al. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm labor and intact membranes. *AJOG* 2001; 185: 1130-1136
385. Perlman JM. Markers of asphyxia and neonatal brain injury. *N Engl J Med* 1999; 341: 364-365
386. Gressens P, Rogido M, Paindaveine B, Sola A. The impact of neonatal intensive care practices on the developing brain. *J Pediatr* 2002; 140: 646-653
387. Goujon E, Parnet P, Aubert A, Goodall G, Dantzer R. Corticosterone regulates behavioral effects of lipopolysaccharide and interleukin-1 beta in mice. *Am J Physiol* 1995; 269: 154-159
388. Crowley PA. Antenatal corticosteroid therapy: a metaanalysis of the randomized trials, 1972 to 1994. *AJOG* 1995; 173: 322-335
389. Shimoya K, Taniguchi T, Matsuzaki N, et al. Chorioamnionitis decreased incidence of respiratory distress syndrome by elevating fetal interleukin-6 serum concentration. *Hum Reprod* 2000; 15: 2234-2240
390. Leviton A, Dammann O, Allred EN, et al. Antenatal corticosteroids and cranial ultrasonographic abnormalities. *AJOG* 1999b; 181: 1007-1017
391. Kallapur SG, Kramer BW, Moss TJ, et al. Maternal glucocorticoids increase endotoxin-induced lung inflammation in preterm lambs. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003; 284: 633-642

392. Kenyon SL, Taylor DJ, Tarnow-Mordi W; ORACLE Collaborative Group. Broad-spectrum antibiotics for preterm, prelabour rupture of fetal membranes: the ORACLE I randomised trial. *ORACLE Collaborative Group. Lancet* 2001; 357: 979-988
393. Kenyon SL, Taylor DJ, Tarnow-Mordi W; ORACLE Collaborative Group. Broad-spectrum antibiotics for spontaneous preterm labour: the ORACLE II randomised trial. *ORACLE Collaborative Group. Lancet* 2001; 357: 989-994
394. Lodha AK, Asztalos E, Moore AM. Elevated cytokines and poor neurodevelopmental outcome in prematurity and NEC. *Ped Research* 2003; 53: 386A
395. Lawn JE, Cousens S, Zupan J. 4 million neonatal deaths: when? Where? Why? *Lancet* 2005; 365:891-900
396. Chaiworapongsa T, Espinoza J, Kalache K, Gervasi MT, Romero R. Sonographic examination of the uterine cervix. In: Chervenak F, Kurjak A, Papp Z, editors. *The Fetus as a Patient: the Evolving Challenge*. New York: Parthenon, 2002; 90-117
397. Leitich H, Kaider A. Fetal fibronectin—how useful is it in the prediction of preterm birth? *BJOG* 2003; 110(20): 66-70
398. Lockwood CJ, Senyei AE, Dische MR, Casal D, Shah KD, Thung SN, et al. Fetal fibronectin in cervical and vaginal secretions as a predictor of preterm delivery. *N Engl J Med* 1991; 325: 669-74
399. Goldenberg RL, Mercer BM, Meis PJ, Copper RL, Das A, McNellis D. The preterm prediction study: fetal fibronectin testing and spontaneous preterm birth. *NICHD Maternal Fetal Medicine Units Network. Obstet Gynecol* 1996; 87: 643-48
400. Chang TC, Chew TS, Pang M, Tan AC, Yeo GS. Cervicovaginal foetal fibronectin in the prediction of preterm labour in a low-risk population. *Ann Acad Med Singapore* 1997; 26:776-80
401. Nageotte MP, Casal D, Senyei AE. Fetal fibronectin in patients at increased risk for premature birth. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170: 20-25
402. Oliveira T, de Souza E, Mariani-Neto C, Camano L. Fetal fibronectin as a predictor of preterm delivery in twin gestations. *Int J Gynaecol Obstet* 1998; 62: 135-39
403. Leitich H, Kaider A. Fetal fibronectin—how useful is it in the prediction of preterm birth? *BJOG* 2003; 110(20): 66-70
404. Goldenberg RL, Klebanoff M, Carey JC, Macpherson C, Leveno KJ, Moawad AH, et al. Vaginal fetal fibronectin measurements from 8 to 22 weeks' gestation and subsequent spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: 469-75
405. Leitich H, Kaider A. Fetal fibronectin—how useful is it in the prediction of preterm birth? *BJOG* 2003;110(20): 66-70
406. Eschenbach DA, Hillier S, Critchlow C, Stevens C, DeRouen T, Holmes KK. Diagnosis and clinical manifestations of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158: 819-28
407. Spiegel CA. Bacterial vaginosis. *Clin Microbiol Rev* 1991;4:485-502. 91. Eschenbach DA. Bacterial vaginosis and anaerobes in obstetric-gynecologic infection. *Clin Infect Dis* 1993; 16 (4):S282-S287
408. McGregor JA, French JI. Bacterial vaginosis in pregnancy. *Obstet Gynecol Surv* 2000; 55:S1-19

409. Sobel JD. Bacterial vaginosis. *Annu Rev Med* 2000; 51: 349-56
410. Carey JC, Klebanoff MA. What have we learned about vaginal infections and preterm birth? *Semin Perinatol* 2003; 27: 212-16
411. Flynn CA, Helwig AL, Meurer LN. Bacterial vaginosis in pregnancy and the risk of prematurity: a metaanalysis. *J Fam Pract* 1999; 48: 885-92
412. Kimberlin DF, Andrews WW. Bacterial vaginosis: association with adverse pregnancy outcome. *Semin Perinatol* 1998; 22: 242-50
413. Subtil D, Denoit V, Le Goueff F, Husson MO, Trivier D, Puech F. The role of bacterial vaginosis in preterm labor and preterm birth: a case-control study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002; 101: 41-46
414. Newton ER, Piper J, Peairs W. Bacterial vaginosis and intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176: 672-77
415. McGregor JA, French JI, Seo K. Premature rupture of membranes and bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 463-66
416. Lamont RF. Recent evidence associated with the condition of preterm prelabour rupture of the membranes. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2003; 15: 91-99
417. Jacobsson B, Pernevi P, Chidekel L, Jorgen Platz-Christensen J. Bacterial vaginosis in early pregnancy may predispose for preterm birth and postpartum endometritis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2002; 81: 1006-10
418. French JI, McGregor JA. Bacterial Vaginosis. In: Faro S, Soper DE, editors. *Infectious diseases in women*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2001; 221-39
419. Donders GG, Bosmans E, Dekeersmaecker A, Vereecken A, Van Bulck B, Spitz B. Pathogenesis of abnormal vaginal bacterial flora. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 872-78
420. Hill LV. Anaerobes and Gardnerella vaginalis in nonspecific vaginitis. *Genitourin Med* 1985; 61: 114-19
421. Donders GG, Bosmans E, Dekeersmaecker A, Vereecken A, Van Bulck B, Spitz B. Pathogenesis of abnormal vaginal bacterial flora. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 872-78
422. Steele C, Fidel PL, Jr. Cytokine and chemokine production by human oral and vaginal epithelial cells in response to *Candida albicans*. *Infect Immun* 2002; 70: 577-83
423. Sobel JD. Vaginitis. *N Engl J Med* 1997; 337: 1896-903
424. Eschenbach DA, Hillier S, Critchlow C, Stevens C, DeRouen T, Holmes KK. Diagnosis and clinical manifestations of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158: 819-28
425. Sobel JD. Vaginitis. *N Engl J Med* 1997; 337: 1896-903
426. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med* 1983; 74: 14-22
427. Spiegel CA, Amsel R, Holmes KK. Diagnosis of bacterial vaginosis by direct gram stain of vaginal fluid. *J Clin Microbiol* 1983; 18: 170-77

428. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 297-301
429. Cauci S. Biomarkers for adverse pregnancy outcome in vaginal fluid associated with altered vaginal flora. 2004
430. Eschenbach DA. Bacterial vaginosis and anaerobes in obstetric-gynecologic infection. *Clin Infect Dis* 1993; 16 (4): 282-287
431. Gibbs RS. Chorioamnionitis and bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 460-62
432. Silver HM, Sperling RS, St Clair PJ, Gibbs RS. Evidence relating bacterial vaginosis to intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161: 808-12
433. Flynn CA, Helwig AL, Meurer LN. Bacterial vaginosis in pregnancy and the risk of prematurity: a metaanalysis. *J Fam Pract* 1999; 48: 885-92
434. Kimberlin DF, Andrews WW. Bacterial vaginosis: association with adverse pregnancy outcome. *Semin Perinatol* 1998; 22: 242-50
435. Goldenberg RL, Iams JD, Mercer BM, Meis PJ, Moawad AH, Copper RL, et al. The preterm prediction study: the value of new vs standard risk factors in predicting early and all spontaneous preterm births. NICHD MFMU Network. *Am J Public Health* 1998; 88: 233-38
436. Carey JC, Klebanoff MA, Hauth JC, Hillier SL, Thom EA, Ernest JM, et al. Metronidazole to prevent preterm delivery in pregnant women with asymptomatic bacterial vaginosis. National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *N Engl J Med* 2000; 342: 534-40
437. Paavonen J, Mangioni C, Martin MA, Wajszczuk CP. Vaginal clindamycin and oral metronidazole for bacterial vaginosis: a randomized trial. *Obstet Gynecol* 2000; 96: 256-60
438. Kekki M, Kurki T, Pelkonen J, Kurkinen-Raty M, Cacciatore B, Paavonen J. Vaginal clindamycin in preventing preterm birth and peripartur infections in asymptomatic women with bacterial vaginosis: a randomized, controlled trial. *Obstet Gynecol* 2001; 97: 643-48
439. Ugwumadu A, Manyonda I, Reid F, Hay P. Effect of early oral clindamycin on late miscarriage and preterm delivery in asymptomatic women with abnormal vaginal flora and bacterial vaginosis: a randomised controlled trial. *Lancet* 2003; 361: 983-88
440. Lamont DF. Changes in vaginal flora after 2% clindamycin vaginal cream in women at high risk of preterm birth. *BJOG* 2003; 110: 788-89
441. Leitich H, Brunbauer M, Bodner-Adler B, Kaider A, Egarter C, Husslein P. Antibiotic treatment of bacterial vaginosis in pregnancy: a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188: 752-58
442. Guise JM, Mahon SM, Aickin M, Helfand M, Peipert JF, Westhoff C. Screening for bacterial vaginosis in pregnancy. *Am J Prev Med* 2001; 20: 62-72
443. Klebanoff MA, Guise JM, Carey JC. Treatment recommendations for bacterial vaginosis in pregnant women. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 1630-31
444. Katz M, Gill PJ, Newman RB. Detection of preterm labor by ambulatory monitoring of uterine activity: a preliminary report. *Obstet Gynecol* 1986; 68: 773-78

445. Katz M, Newman RB, Gill PJ. Assessment of uterine activity in ambulatory patients at high risk of preterm labor and delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 154: 44-47
446. Nageotte MP, Dorchester W, Porto M, Keegan KA, Jr., Freeman RK. Quantitation of uterine activity preceding preterm, term, and postterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158: 1254-59
447. Multicenter randomized, controlled trial of a preterm birth prevention program. Collaborative Group on Preterm Birth Prevention. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 352-66
448. Sachs BP, Hellerstein S, Freeman R, Frigoletto F, Hauth JC. Home monitoring of uterine activity. Does it prevent prematurity? *N Engl J Med* 1991; 325: 1374-77
449. Dyson DC, Danbe KH, Bamber JA, Crites YM, Field DR, Maier JA, et al. Monitoring women at risk for preterm labor. *N Engl J Med* 1998; 338: 15-19
450. Garfield RE, Chwalisz K, Shi L, Olson G, Saade GR. Instrumentation for the diagnosis of term and preterm labour. *J Perinat Med* 1998;26:413-36
451. Maner WL, Garfield RE, Maul H, Olson G, Saade G. Predicting term and preterm delivery with transabdominal uterine electromyography. *Obstet Gynecol* 2003; 101: 1254-6
452. McLean M, Bisits A, Davies J, Woods R, Lowry P, Smith R. A placental clock controlling the length of human pregnancy. *Nat Med* 1995; 1: 460-63
453. McLean M, Bisits A, Davies J, Woods R, Lowry P, Smith R. A placental clock controlling the length of human pregnancy. *Nat Med* 1995; 1: 460-63
454. Wadhwa PD, Garite TJ, Porto M, Glynn L, Chicz-DeMet A, Dunkel-Schetter C, et al. Placental corticotropin-releasing hormone (CRH), spontaneous preterm birth, and fetal growth restriction: a prospective investigation. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191: 1063-69
455. Hobel CJ, Dunkel-Schetter C, Roesch SC, Castro LC, Arora CP. Maternal plasma corticotropin-releasing hormone associated with stress at 20 weeks' gestation in pregnancies ending in preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 257-263
456. Hobel CJ, Dunkel-Schetter C, Roesch SC, Castro LC, Arora CP. Maternal plasma corticotropin-releasing hormone associated with stress at 20 weeks' gestation in pregnancies ending in preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 257-263
457. McLean M, Bisits A, Davies J, Woods R, Lowry P, Smith R. A placental clock controlling the length of human pregnancy. *Nat Med* 1995; 1: 460-63
458. McLean M, Smith R. Corticotrophin-releasing hormone and human parturition. *Reproduction* 2001; 121: 493-501
459. Inder WJ, Prickett TC, Ellis MJ, Hull L, Reid R, Benny PS, et al. The utility of plasma CRH as a predictor of preterm delivery. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5706-10
460. McGregor JA, Jackson GM, Lachelin GC, Goodwin TM, Artal R, Hastings C, et al. Salivary estriol as risk assessment for preterm labor: a prospective trial. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 1337-42
461. McGregor JA, Hastings C, Dullien V, V. A meta-analysis of salivary estriol (sE(3)) as a means to identify women at risk for preterm birth due to fetal-placental endocrine mechanisms. *Prim Care Update Ob Gyns* 1998; 5: 179
462. Narayanan S. Multifunctional roles of thrombin. *Ann Clin Lab Sci* 1999; 29: 275-80

463. Dati F, Pelzer H, Wagner C. Relevance of markers of hemostasis activation in obstetrics/gynecology and pediatrics. *Semin Thromb Hemost* 1998; 24: 443-48
464. Comeglio P, Fedi S, Liotta AA, Cellai AP, Chiarantini E, Prisco D, et al. Blood clotting activation during normal pregnancy. *Thromb Res* 1996; 84: 199-202
465. Chaiworapongsa T, Espinoza J, Yoshimatsu J, Kim YM, Bujold E, Edwin S, et al. Activation of coagulation system in preterm labor and preterm premature rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2002; 11: 368-73
466. Odibo AO, Ural SH, Macones GA. The prospects for multiple-marker screening for preterm delivery: does transvaginal ultrasound of the cervix have a central role? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002; 19: 429-35
467. Odibo AO, Ural SH, Macones GA. The prospects for multiple-marker screening for preterm delivery: does transvaginal ultrasound of the cervix have a central role? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002; 19: 429-35
468. Hoesli I, Tercanli S, Holzgreve W. Cervical length assessment by ultrasound as a predictor of preterm labour—is there a role for routine screening? *BJOG* 2003; 110(20): 61-65
469. Hincz P, Wilczynski J, Kozarzewski M, Szaflik K. Twostep test: the combined use of fetal fibronectin and sonographic examination of the uterine cervix for prediction of preterm delivery in symptomatic patients. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2002; 81: 58-63
470. Gomez R, Romero R, Montiel C, Magendzo A, Pino P, Nien J, et al. Cervicovaginal fetal fibronectin improves the prediction of preterm delivery estimated by sonographic cervical length in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187: 80
471. Heath VC, Daskalakis G, Zagaliki A, Carvalho M, Nicolaides KH. Cervicovaginal fibronectin and cervical length at 23 weeks of gestation: relative risk of early preterm delivery. *BJOG* 2000; 107: 1276-81
472. Gomez R, Romero R, Medina L, Nien JK, Chaiworapongsa T, Carstens M, et al. Cervicovaginal fibronectin improves the prediction of preterm delivery based on sonographic cervical length in patients with preterm uterine contractions and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 192: 350-59
473. Romero R, Sepulveda, W, Baumann, P, Yoon, BH, Brandt, F, Gomez, R et al. The preterm labor syndrome: Biochemical, cytologic, immunologic, pathologic, microbiologic, and clinical evidence that preterm labor is a heterogeneous disease. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168, 288
474. Romero R, Mazor M, Munoz H, Gomez R, Galasso M, Sherer DM. The preterm labor syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 734: 414-29
475. Gravett MG, Novy MJ, Rosenfeld RG, Reddy AP, Jacob T, Turner M, et al. Diagnosis of intra-amniotic infection by proteomic profiling and identification of novel biomarkers. *JAMA* 2004; 292: 462-69
476. Romero R, Kuivaniemi H, Tromp G. Functional genomics and proteomics in term and preterm parturition. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2431-34
477. Romero R, Gomez, R, Nien, JK, Yoon, BH, Luo, R, Beecher, C et al. Metabolomics in premature labor: A novel approach to identify patients at risk for preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191(6): 2
478. Sadowsky DW, Novy MJ, Witkin SS, Gravett MG. Dexamethasone or interleukin-10 blocks interleukin-1beta-induced uterine contractions in pregnant rhesus monkeys. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188: 252-63
479. Kwegyir-Afful E, Ijaz S, Räsänen K, Verbeek J. Randomized controlled trials are needed to close the evidence gap in the prevention of preterm birth. *Scand J Work Environ Health* 2014; 40(1): 96-9

480. Mirabzadeh A<sup>1</sup>, Dolatian M<sup>2</sup>, Forouzan AS<sup>2</sup>, Sajjadi H<sup>2</sup>, Majd HA<sup>3</sup>, Mahmoodi Z<sup>4</sup>. Path analysis associations between perceived social support, stressful life events and other psychosocial risk factors during pregnancy and preterm delivery. *Iran Red Crescent Med J* 2013; 15(6): 507-14
481. Moutquin JM. Socio-economic and psychosocial factors in the management and prevention of preterm labour. *BJOG* 2003; 110(20): 56-60
482. Lamont RF. Infection in the prediction and antibiotics in the prevention of spontaneous preterm labor and preterm birth. *BJOG* 2003; 110(20): 71-75
483. Leitich H, Bodler-Adler B, Brunbauer M, Kaider A, Egarter C, Husslein P. Bacterial vaginosis as a risk factor for preterm delivery: A meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189: 139-147
484. Vintzileos AM, Campbell WA, Nochimson DJ, Weinbaum PJ, Escoto DT, Mirochnick MH. Qualitative amniotic fluid volume versus amniocentesis in predicting infection in preterm premature rupture of the membranes. *Obstet Gynecol* 1986; 67: 579-583
485. Capoccia R, Greub G, Baud D. *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* and adverse pregnancy outcomes. *Curr Opin Infect Dis* 2013; 26(3): 231-40
486. Gerber S, Vial Y, Hohlfeld P, Witkin SS. Detection of *Ureaplasma urealyticum* in second-trimester amniotic fluid by polymerase chain reaction correlates with subsequent preterm labor and delivery. *J Infect Dis* 2003; 187(3): 518-521
487. Brocklehurst P, Rooney G. Interventions for treating genital *Chlamydia trachomatis* infection in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; CD000054
488. Borborema-Alfaia AP, Freitas NS, Astolfi Filho S, Borborema-Santos CM. *Chlamydia trachomatis* infection in a sample of northern Brazilian pregnant women: prevalence and prenatal importance. *Braz J Infect Dis* 2013; 17(5): 545-50
489. Kaufman D, Fairchild KD. Clinical microbiology of bacterial and fungal sepsis in very low birth weight infants. *Clin Microbiol Rev* 2004; 17(3): 638-680
490. Lin FY, Weisman LE, Troendle J, Adams K. Prematurity is the major risk factor for late-onset group B streptococcus disease. *J Infect Dis* 2003; 188(2): 267-71
491. Al-Kadri HM, Bamuhair SS, Johani SM, Al-Buriki NA, Tamim HM. Maternal and neonatal risk factors for early-onset group B streptococcal disease: a case control study. *Int J Womens Health*. 2013; 5: 729-35
492. Lamont RF, Duncan SL, Mandal D, Bassett P. Intravaginal clindamycin to reduce preterm birth in women with abnormal genital tract flora. *Obstet Gynecol* 2003; 101: 516-522
493. Klein LL, Gibbs RS. Use of microbial cultures and antibiotics in the prevention of infection-associated preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190(6):1493-1502
494. Kekki M, Kurki T, Kotomaki T, Sintonen H, Paavonen J. Cost-effectiveness of screening and treatment for bacterial vaginosis in early pregnancy among women at low risk for preterm birth. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004; 83(1): 2-3
495. Carey JC, Klebanoff MA, National Institute of Child Health and Human Development Maternal- Fetal Medicine Units Network. What have we learned about vaginal infections and preterm birth? *Semin Perinatol* 2003; 27(3): 212-216
496. Tebes CC, Lynch C, Sinnott J. The effect of treating bacterial vaginosis on preterm labor. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2003; 11(2): 123-129



497. Kenyon SL, Taylor DJ, Tarnow –Mordi W. Broad spectrum antibiotics for spontaneous preterm labor; The ORACLE II randomized trial. ORACLE Collaborative Group. *Lancet* 2001; 357: 989-994
498. King J, Flenady V. Prophylactic antibiotics for inhibiting preterm labor with intact membranes. *Cochrane Database Syst Rev* 2002(4): CD000246
499. Lamont RF, Duncan SL, Mandal D, Bassett P. Intravaginal clindamycin to reduce preterm birth in women with abnormal genital tract flora. *Obstet Gynecol* 2003; 101: 516-522
500. Cram LF, Zapata MI, Toy EC, Baker B 3rd. Genitourinary infections and their association with preterm labor. *Am Fam Physician* 2002; 65(2): 241-8
501. Uncu Y, Uncu G, Esmer A, Bilgel N. Should asymptomatic bacteriuria be screened in pregnancy? *Clin Exp Obstet Gynecol* 2002; 28(4): 281-285
502. McDermott S, Callaghan W, Szwejbka L, Mann H, Daguise V. Urinary tract infections during pregnancy
503. Kremery S, Hromec J, Demesova D. Treatment of lower urinary tract infection in pregnancy. *Int J Antimicrob Agents* 2001; 17: 279-282
504. Wing DA, Fassett MJ, Getahun D. Acute pyelonephritis in pregnancy: an 18-year retrospective analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2013 Oct 5. pii: S0002-9378(13)01044-2. doi: 10.1016/j.ajog.2013.10.006. [Epub ahead of print]
505. Jain V, Das V, Agarwal A, Pandey A. Asymptomatic bacteriuria & obstetric outcome following treatment in early versus late pregnancy in north Indian women. *Indian J Med Res* 2013; 137(4): 753-8
506. Wei SQ, Fraser W, Luo ZC. Inflammatory cytokines and spontaneous preterm birth in asymptomatic women: a systematic review. *Obstet Gynecol* 2010; 116(2 Pt 1): 393-401
507. Ford C, Genç MR. Optimized amniotic fluid analysis in patients suspected of intrauterine infection/ inflammation. *J Perinat Med* 201; 40(1): 33-7
508. Greig PC, Ernest JM, Teot L. Low amniotic fluid glucose levels are a specific but not a sensitive marker for subclinical intrauterine infections in patients in preterm labor with intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171(2): 365-70
509. Puchner K, Iavazzo C, Gourgiotis D, Boutsikou M, Baka S, Hassiakos D, Kouskouni E, Economou E, Malamitsi-Puchner A, Creatsas G. Mid-trimester amniotic fluid interleukins (IL-1 $\beta$ , IL-10 and IL-18) as possible predictors of preterm delivery. *In Vivo* 2011; 25(1): 141-8
510. Flídrová E, Krejsek J. Innate immunity in pathogenesis of intraamniotic inflammation in pregnancies complicated by preterm premature rupture of membranes. *Ceska Gynekol* 2011 Feb; 76(1): 46-50
511. Kopyra P, Seremak-Mrozikiewicz A, Drews K. Usefulness of PCT, IL-6, CRP measurement in the prediction of intraamniotic infection and newborn status in pregnant women with premature rupture of membranes. *Ginekol Pol* 2010; 81(5): 336-41
512. Park CW, Yoon BH, Kim SM, Park JS, Jun JK. The frequency and clinical significance of intra-amniotic inflammation defined as an elevated amniotic fluid matrix metalloproteinase-8 in patients with preterm labor and low amniotic fluid white blood cell counts. *Obstet Gynecol Sci* 2013; 56(3): 167-75
513. Kim A, Lee ES, Shin JC, Kim HY. Identification of biomarkers for preterm delivery in mid-trimester amniotic fluid. *Placenta* 2013; 34(10): 873-8

514. Kuć P, Lemancewicz A, Laudański P, Krętowska M, Laudański T. Total matrix metalloproteinase-8 serum levels in patients labouring preterm and patients with threatened preterm delivery. *Folia Histochem Cytobiol* 2010; 48(3): 366-70
515. Becher N, Hein M, Danielsen CC, Uldbjerg N. Matrix metalloproteinases in the cervical mucus plug in relation to gestational age, plug compartment, and preterm labor. *Reprod Biol Endocrinol* 2010; 8:113
516. Kacerovský M, Musilová I. Management of preterm prelabor rupture of membranes with respect to the inflammatory complications - our experiences. *Ceska Gynekol* 2013; 78(6): 509-13
517. Vidaeff AC, Monga M, Ramin SM, Saade G, Sangi-Haghighpeykar H. Is thrombin activation predictive of subsequent preterm delivery? *Am J Obstet Gynecol* 2013; 208(4): 306e1-7
518. Vidaeff AC, Monga M, Saade G, Bishop K, Ramin SM. Prospective investigation of second-trimester thrombin activation and preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2012; 206(4) :333e1-6
519. Cobo T, Palacio M, Martínez-Terrón M, et al. Clinical and inflammatory markers in amniotic fluid as predictors of adverse outcomes in preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2011; 205: 126.e1-8
520. Luo X, Shi Q, Gu Y, Pan J, Hua M, Liu M, Dong Z, Zhang M, Wang L, Gu Y, Zhong J, Zhao X, Jenkins EC, Brown WT, Zhong N. LncRNA Pathway Involved in Premature Preterm Rupture of Membrane (PPROM): An Epigenomic Approach to Study the Pathogenesis of Reproductive Disorders. *PLoS One* 2013; 8(11): e79897
521. Romero R, Kusanovic JP, Chaiworapongsa T, Hassan SS. Placental bed disorders in preterm labor, preterm PROM, spontaneous abortion and abruptio placentae. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2011; 25(3): 313-27
522. Khong Y, Brosens I. Defective deep placentation. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2011; 25(3): 301-11
523. Lockwood CJ, Kayisli UA, Stocco C, Murk W, Vatandaslar E, Buchwalder LF, Schatz F. Abruptio-induced preterm delivery is associated with thrombin-mediated functional progesterone withdrawal in decidual cells. *Am J Pathol* 2012; 181(6): 2138-48
524. Romero R, Savasan ZA, Chaiworapongsa T, Berry SM, Kusanovic JP, Hassan SS, Yoon BH, Edwin S, Mazor M. Hematologic profile of the fetus with systemic inflammatory response syndrome. *J Perinat Med* 2011; 40(1): 19-32
525. Bartkeviciene D, Pilypiene I, Drasutiene G, Bausyte R, Mauricas M, Silkunas M, Dumlakienė I. Leukocytosis as a prognostic marker in the development of fetal inflammatory response syndrome. *Libyan J Med* 2013; 8: 21674
526. Combs CA, Gravett M, Garite TJ, Hickok DE, Lapidus J, Porreco R, Rael J, Grove T, Morgan TK, Clewell W, Miller H, Luthy D, Pereira L, Nageotte M, Robilio PA, Fortunato S, Simhan H, Baxter JK, Amon E, Franco A, Trofatter K, Heyborne K. Amniotic fluid infection, inflammation, and colonization in preterm labor with intact membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2013 Nov 23. pii: S0002-9378(13)02146-7
527. Zhao J, Chen Y, Xu Y, Pi G. Effect of intrauterine infection on brain development and injury. *Int J Dev Neurosci* 2013; 31(7): 543-9
528. Wu YW, Colford JM. Chorio-amnionitis as a risk factor for cerebral palsy: A meta-analysis. *JAMA* 2000; 284: 1417-1424
529. Wheeler M, Rennie JM. Perinatal infection is an important risk factor for cerebral palsy in very-lowbirth weight infants. *Dev Med Child Neurol* 2000; 42: 364-367
530. Burd I, Balakrishnan B, Kannan S. Models of fetal brain injury, intrauterine inflammation, and preterm birth. *Am J Reprod Immunol*. 2012; 67(4): 287-94

531. Elovitz MA, Brown AG, Breen K, Anton L, Maubert M, Burd I. Intrauterine inflammation, insufficient to induce parturition, still evokes fetal and neonatal brain injury. *Int J Dev Neurosci* 2011; 29(6): 663-71
532. Nelson KB, Dambrosia JM, Grether JK, Phillips TM. Neonatal cytokines and coagulation factors in children with cerebral palsy. *Ann Neurol* 1998; 44: 665-675
533. Maxwell G L. Preterm premature rupture of membranes. *Obstet Gynecol Surv* 1993; 48(10):576-83

## BIOGRAFIJA AUTORA

Marija S. Tasić rođena je 09.09.1965. godine u Sokobanji. Osnovnu i srednju školu završila je u Sokobanji sa prosečnom ocenom 5,00. Studije na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Nišu, studijska grupa medicina, upisala je oktobra 1984. i završila marta 1990. godine, sa ocenom iz predmeta Ginekologija sa akušerstvom 9 i prosečnom ocenom 8.78, čime je stekla stručni naziv **doktor medicine**. Tokom osnovnih studija stručnu praksu obavlja u Oviedu, u Španiji. Postdiplomske studije na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Nišu završava sa prosečnom ocenom 10.0 (deset), a 28.01.2003. godine brani magistarsku tezu pod naslovom „*Indikacije za dovršavanje posttermanske trudnoće*“ čime stiže akademski naziv **magistar medicinskih nauka – oblast Ginekologija i akušerstvo**. Od školske 2003/04 do školske 2008/09. godine na Medicinskom fakultetu u Nišu, u svojstvu asistenta saradnika, učestvuje u izvođenju praktičnih vežbi iz predmeta Ginekologija sa akušerstvom. Odlukom Nastavno-naučnog veća Medicinskog fakulteta u Nišu i saglasnošću Univerziteta od 18.05.2009. godine odobrena joj je **tema za izradu doktorske disertacije** pod naslovom „*Klinički značaj intraamnijalne inflamacije kod prevremenih porođaja*“.

Marija S. Tasić od 1991. godine volonterski radi u Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra u Nišu, a 1995. godine je u istoimenoj klinici zaposlena na neodređeno vreme. Specijalistički ispit iz ginekologije i akušerstva položila je 11.07.1996. godine sa ocenom odličan i time stekla stručni naziv **specijalista ginekologije i akušerstva**. U okviru **subspecijalizacije** iz oblasti *Perinatologije*, 2002/03. godine, boravi u Institutu za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Srbije. Pod pokroviteljstvom CHF-a i Američke agencije za međunarodni razvoj (USAID), decembra 2004. godine obavlja studijski boravak u MAV Hospital u Budumpešti. Od 2000. godine stručno i odgovorno obavlja funkciju zamenika načelnika porodilišta Klinike za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra u Nišu. Šef porodilišta postaje jula 2008, a **načelnik porodilišta** marta 2009. godine.

Marija S. Tasić je autor i koautor 14 naučnih radova. Posедуje brojne diplome i sertifikate, a dobitnik je i diplome Ginekološko-akušerske sekcije Srpskog lekarskog društva za doprinos u radu. Više puta predavač po pozivu.

28.11.2013. god. Ministarstvo zdravlja Republike Srbije dodeljuje joj naziv **Primarijus**. Istrajnost, pozitivna energija, profesionalnost, otvorena komunikacija, usvajanje novih znanja i veština, pravdoljubivost, vera u sebe i druge, prihvatanje različitosti i drugačijeg mišljenja su osobine koje neguje i unapređuje.

**Majka je dvoje dece.**



Прилог I.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

„КЛИНИЧКИ ЗНАЧАЈ ИНТРААМНИЈАЛНЕ ИНФЛАМАЦИЈЕ  
КОД ПРЕВРЕМЕНИХ ПОРОДАЈА“

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација, ни у целини, ни у деловима, није била предложена за добијање било које дипломе, према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права, нити злоупотребио/ла интелектуалну својину других лица.

У Нишу, 01. 04. 2014.

Аутор дисертације: Prim. mr sc. med. dr. Marija S. Tasić

Поштом докторанда:

Tasić



Прилог 2.

ИЗЈАВА О ИСЛОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ  
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Име и презиме аутора: MARIJA S. TASIC  
Студијски програм: MEDICINA  
Наслов рада: KLINIČKI ZNAČAJ INTRAAMNIJALNE INFLAMACIJE KOD  
PREUREMENIH PORODAJA  
Ментор: PROF. DR BORISLAV KAHENOV

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације истоветна електронској верзији, коју сам предао/ла за уношење у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу, 01.04.2014.

Аутор дисертације: PRIM. MR SC.MED. DR MARIJA S. TASIC

Потпис докторанда:

Chulovic



Прилог 3.

### ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да, у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, унесе моју докторску дисертацију, под насловом:

„КЛИНИЧКИ ЗНАЧАЈ ИНТРААМНИЈАЛНЕ ИНФЛАМАЦИЈЕ  
КОД ПРЕВРЕМЕНИХ ПОРОЂАЈА“

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату, погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију, унегу у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство

2. Ауторство – некомерцијално

3. Ауторство – некомерцијално – без прераде

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима

5. Ауторство – без прераде

6. Ауторство – делити под истим условима

(Можемо да подучете само једну од шест попуњених лиценци, кратак опис лиценци је у наставку текста).

У Нишу, 01. 04. 2014.

Аутор дисертације: PRIM. MR SC. MED. DR. MARIJA S. TASIĆ

Цитни докторанда:

Tasić