

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**1.LÉKAŘSKÁ FAKULTA**



**Současný pohled na pozadí a management spontánního  
předčasného porodu**

**HABILITAČNÍ PRÁCE**

**MUDr. Michal Koucký, Ph.D.**  
**Praha**

## **PROHLÁŠENÍ:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze 3.10.2020

## Abstrakt

Habilitační práce se věnuje problematice spontánního předčasného porodu. Ten představuje nejen medicínský, ale i socioekonomický problém – nese s sebou určitou pravděpodobnost dlouhodobého handicapu dětí. V první části práce se věnuji popisu stávajících poznatků o epidemiologii, patofyziologii, klinickém obrazu, managementu a prevenci předčasného porodu. Reprodukční imunologie v současné době zřejmě nejlépe odpovídá na otázky spojené s pozadím předčasného porodu. Předpokládáme, že narušení materno-fetální tolerance bude nejvýznamnější cestou vedoucí ke spontánním předčasnému porodu. Neadekvátní komunikace mezi mateřskou imunitou, plodem prezentujícím paternální antigeny a originální mikrobiotou matky může vést k chronickému zánětlivému procesu, který je považován za hlavní patofyziologický podklad předčasného porodu. Prvním dílčím cílem našich projektů bylo zjistit, jak souvisí hladiny vybraných imunologických ukazatelů s předčasným porodem. Prokázali jsme, že absolutní snížení hladin T regulačních lymfocytů je spojeno s předčasným porodem. Jako první jsme popsali, že kombinované hodnocení počtu T regulačních lymfocytů spolu s cervikometrií přináší přesnější informaci o riziku předčasného porodu než hodnocení obou jednotlivých ukazatelů v predikci předčasného porodu. Dále jsme zjistili, že snížení hladin jedné ze součástí vrozené imunity, složky komplementu – mannose binding lectinu ( MBL ) - je spojeno s předčasným porodem a nízkou porodní vahou dětí a také dalšími komplikacemi těhotenství, jako jsou opakované potrácení a nevysvětlitelné úmrtí plodu. V dalším projektu jsme jako první také prokázali, že je podání progesteronu těhotným vaginálně spojeno nejen se snížením rizika předčasného porodu, ale také s redukcí osídlení mikrobem *Ureaplasma urealyticum*, jehož výskyt v porodních cestách matky je spojen s vyšším rizikem neonatální morbidity. V posledním projektu jsme jako první v ČR analyzovali výsledky společné práce porodníků a neonatologů v péči o těhotné/novorozence na hranici viability, v tzv. šedé zóně. Vyhodnocení péče je v této oblasti s nejistou prognózou dětí důležité pro lepší komunikaci mezi porodníky, neonatology a rodiči. Na podkladě dosavadních výsledků tak můžeme předkládat data, která mohou pomoci v rozhodovacím procesu v péči o matku a dítě u všech zúčastněných.

## **Abstract**

The habilitation thesis deals with the issue of spontaneous preterm birth. This is not only a medical but also a socio-economic problem - preterm birth carries with it a certain probability of long-term disability of children. In the first part of the work I describe the current knowledge about epidemiology, pathophysiology, clinical picture, management and prevention of preterm birth. Reproductive immunology currently seems to best answer questions related to the background of preterm birth. We hypothesize that impaired maternal-fetal tolerance will be the most significant pathway leading to spontaneous preterm birth. Inadequate communication between maternal immune system, the fetus presenting paternal antigens and the original maternal microbiota can lead to a chronic inflammatory process, which is considered to be the main pathophysiological basis of preterm birth. The first goal of my work was to assess the relationship among the levels of selected maternal immunological indicators the risk of preterm labor. We show for the first time that the combined assessment of Treg cell count and cervical length is a much better predictor of preterm delivery than either parameter used on its own. This combined approach may offer clinical application in patients who present with risk factors for preterm labor. Our another two studies demonstrated a strong association between MBL deficiency and serious complications of pregnancy, such as preterm delivery, recurrent miscarriage and unexplained fetal death. MBL deficiency could thus be considered an important risk factor for these complications. In another project, we have shown that the administration of progesterone to pregnant women vaginally is associated not only with a reduced risk of preterm birth, but also with a reduction in *Ureaplasma urealyticum*, which may contribute to neonatal morbidity. In the last project, we were the first in the Czech Republic to analyze the results of joint work of obstetricians and neonatologists in the care of pregnant women / newborns on the limits of viability, in the so-called gray zone. Evaluation of the care in this area with an uncertain prognosis of children is important, among other things, for better communication between obstetricians, neonatologists and parents. Based on the results so far, we can present such data that can help in the decision-making process for all involved.

## **Poděkování**

Na tomto místě bych rád bych poděkoval všem spolupracovníkům za pomoc a podporu v mé profesní dráze i výzkumu. Poděkování patří zejména současnému přednostovi Gynekologicko-porodnické kliniky prof. MUDr. Aloisovi Martanovi, DrSc. a vedoucím lékařům porodnické části kliniky prof. MUDr. Zdeňku Hájkovi, DrSc a prof. MUDr. Antonínu Pařízkovi, CSc., pod jejichž vedením jsem se učil porodnictví a materno-fetální medicíně. Pomohli mi v mém profesním a vědeckém rozvoji a společně jsme publikovali řadu článků. Rád bych poděkoval i všem mým kolegům i porodním asistentkám z naší kliniky, bez jejichž týmové spolupráce by nebylo možné dosáhnout všech výsledků a přispět k posunu oboru materno-fetální medicíny na současnou úroveň. Zvláštní poděkování patří i paní primářce MUDr. Karin Malíčkové a Mgr. Heleně Kopřivové z oddělení klinické imunologie a alergologie a také panu profesorovi MUDr. Tomášovi Zimovi, DrSc., přednostovi Ústavu klinické biochemie a laboratorní diagnostiky a současně rektorovi Univerzity Karlovy, bez jejichž podpory a zázemí bychom nebyli schopni projekty realizovat.

## **Předmluva**

Ve své habilitační práci nejprve uvádím aktuální poznatky o pozadí a managementu spontánního předčasného porodu. Téměř celý svůj profesní život se věnuji oboru materno-fetální medicína. Po obhajobě dizertační práce, která se věnovala úloze zánětu, konkrétně vybraných matrixmetalloproteináz, v patofyziologii spontánního předčasného porodu, jsem se na tuto problematiku dále více zaměřil a to jak z výzkumného, tak i klinického pohledu. Velkou pomocí a inspirací byla pro mě stáž na pracovišti The Perinatology Research Branch (NICHD/NIH), Detroit Medical Center And Wayne State University, Michigan, USA, kde byl mým mentorem prof. Roberto Romero, M.D., D.MED.SCI., jeden z předních světových odborníků v oblasti materno-fetální medicíny. Během stáže jsem měl možnost, kromě klinických, získat vědecké zkušenosti i inspiraci s vedením studií v této oblasti. Materno-fetální medicína představuje klinicko-vědecký obor, kde se velmi úzce prolínají poznatky z teoretických a klinických částí lékařství. Denní praxe vyžaduje neustálou mezioborovou spolupráci, nejen mezi porodníky a neonatologym, ale i odborníky z jiných klinických oborů. S neonatologym jsme v každodenním kontaktu a přestože jsou pro danou klinickou diagnózu k dispozici rámcové doporučené postupy, diskutujeme u každé pacientky individuální postup další péče. Většina autorit se nyní shoduje, že reprodukční imunologie pravděpodobně nejlépe odpovídá na otázky spojené s pozadím spontánního předčasného porodu. Primární prevence předčasného porodu zatím není možná, nicméně, za posledních několik let pomohly poznatky z výzkumu vytvořit různá opatření směřující k sekundární prevenci předčasného porodu. Pokrok v medicíně také umožnil měnit management péče o ženy s předčasným porodem na hranici viability. Některé postupy v předporodní péči o těhotné a poporodní péči o děti tak umožňují zlepšit šance na přežití a nižší nemocnost extrémně nezralých dětí. V teoretické části habilitační práce se věnuji popisu aktuálních poznatků z oblasti patofyziologie a managementu předčasného porodu. Vlastní výzkumná část práce obsahuje dvě hlavní témata. První téma se věnuje výzkumu pozadí předčasného porodu a možnostem využití jeho poznatků v klinické praxi, druhé pak aktuálním trendům v managementu předčasného porodu na hranici viability novorozenců.

## **Obsah**

<b>1 Úvod</b>	
<b>1.1 Definice pojmů</b>	<b>9</b>
<b>1.2 Základní rysy patofyziologie předčasného porodu</b>	<b>9</b>
<b>1.3 Základní rysy managementu předčasného porodu</b>	<b>10</b>
<b>2 Pracovní hypotézy</b>	<b>12</b>
<b>3 Cíle práce</b>	<b>14</b>
<b>4 Shrnutí problematiky – teoretické pozadí a klinický management předčasného porodu</b>	
<b>4.1 Definice předčasného porodu</b>	<b>15</b>
<b>4.2 Perinatální mortalita a morbidita</b>	<b>17</b>
<b>4.3 Incidence předčasného porodu</b>	<b>23</b>
<b>4.4 Rizikové faktory předčasného porodu</b>	
<b>4.4.1 Genetická predispozice</b>	<b>24</b>
<b>4.4.2 Demografické a psychosociální rizikové faktory</b>	<b>25</b>
<b>4.4.3 Vliv výživy a návykových látek</b>	<b>25</b>
<b>4.4.4 Úloha infekce</b>	<b>26</b>
<b>4.4.5 Reprodukční anamnéza</b>	<b>28</b>
<b>4.4.6 Rizikové faktory v aktuálním těhotenství</b>	<b>28</b>
<b>4.5 Patofyziologie předčasného porodu</b>	
<b>4.5.1 Obecný pohled na patofyziologii předčasného porodu</b>	<b>28</b>
<b>4.5.2 Zapojení zánětu na úrovni myometria</b>	<b>32</b>
<b>4.5.3. Zapojení zánětu na úrovni děložního hrdla</b>	<b>33</b>
<b>4.5.4 Zapojení zánětu na úrovni deciduy a plodových obalů</b>	<b>34</b>
<b>4.5.5 Intraamniální zánět, fetální zánětlivá odpověď</b>	<b>35</b>
<b>4.5.6 Etiologické spouštěcí mechanismy předčasného porodu</b>	<b>37</b>
<b>4.6 Klinický obraz předčasného porodu</b>	<b>52</b>
<b>4.7 Diagnostika předčasného porodu</b>	<b>53</b>
<b>4.8 Hrozící předčasný porod – možnosti predikce</b>	<b>54</b>
<b>4.9 Možnosti diagnostiky intraamniálního zánětu</b>	<b>57</b>
<b>4.10 Management předčasného porodu</b>	

4.10.1 Tokolýza	59
4.10.2 Kortikosteroidy	62
4.10.3 Neuroprotektce	63
4.10.4 Antibiotika	64
4.10.5 Zásady managementu předčasného porodu se zachovalou plodovou vodou	68
4.10.6 Zásady managementu předčasného porodu s PPRM	70
4.10.7 Zásady managementu předčasného porodu v šedé zóně	74
4.11 Prevence předčasného porodu	76
<b>5 Vlastní práce</b>	
5.1 Jak souvisí hladiny T regulačních lymfocytů v mateřské krvi s předčasným porodem a je možné změny jejich počtu využít k predikci spontánní prematurity	83
5.2 Snižuje vaginálně podávaný progesteron riziko předčasného porodu a současně i kolonizaci porodních <i>Ureaplasma urealyticum</i> ?	104
5.3 Mohou snížené hladiny vybrané složky vrozené imunity mannose-binding lectinu ( MBL ) v průběhu těhotenství, i mimo něj , souviset s rizikem nepříznivých výsledků těhotenství, především předčasného porodu a nízké porodní váhy novorozenců?	114
5.4 Jak ovlivňují porodnické postupy v péči o ženy s předčasným porodem na hranici viability mortalitu a krátkodobou morbiditu novorozenců	133
6 Diskuse	146
7 Závěr	154
8 Publikace autora vztahující se k problematice habilitační práce	156
9 Seznam použité literatury	162

#### Seznam použitých zkratk



# 1 Úvod

## 1.1 Definice pojmů

Předčasný porod představuje celosvětově závažný medicínský a socioekonomický problém. Je definován jako porod před 37.týdnem těhotenství. Dolní hranice je předmětem diskusí, ve většině vyspělých států je tato stanovena na 24.týden těhotenství. V ekonomicky rozvinutých zemích se týká přibližně 8% žen. Hovoříme-li o předčasném porodu, je nutné problematiku rozdělit na dvě části. Spontánní předčasný porod zahrnuje většinu případů, týká se přibližně 75% žen. Tzv. indikovaný předčasný porod představuje ukončení těhotenství ze strany matky (nejčastěji preeklampsie), plodu ( fetální růstová restrikce) či obou – přibližně 25% žen. Habilitační práce se věnuje problematice spontánního předčasného porodu a ve zkrácené formě již v dalším textu o ni budu pojednávat jen jako o předčasném porodu [ 1 ].

## 1.2 Základní rysy patofyziologie předčasného porodu

Řadu let jsme měli jen omezené představy o tom, co by mohlo být spouštěcím mechanismem předčasného porodu. Postupně byly definovány základní rizikové faktory a posléze navrženy i možné příčiny. Základním (pato)fyziologickým mechanismem předčasného i termínového porodu je zánět – rozdíl mezi nimi spočívá „pouze“ v časování, u předčasného porodu předpokládáme patologickou aktivaci procesu již v samém úvodu těhotenství [ 2 ]. V případě předčasného porodu s sebou zánětlivý proces nese dlouhodobé změny na úrovni myometria, děložního hrdla a plodových obalů. Soudobými možnostmi jsme schopni detekovat tyto procesy především hodnocením délky děložního hrdla pomocí ultrazvuku. Děložní hrdlo měříme ultrazvukovou vaginální sondou (metoda se nazývá ultrazvuková cervikometrie) , kdy jeho zkrácení pod 25 mm mezi 20.-30.týdnem těhotenství může/nemusí být předobrazem spontánního předčasného porodu [ 3 ]. Za nejvýznamnější příčinu zánětlivého procesu je již od počátku získávání znalostí považována infekce a to nejen ve vlastních porodních cestách [ 4 ] . S vývojem mikrobiologie a zlepšením detekčních technik k průkazu mikroorganismů však vyvstala zásadní otázka. Jak je možné, že některé mikroorganismy osídlují porodní cesty až desítky procenty těhotných ( např. streptokoky skupiny B, *Ureaplasma urealyticum* ) a přitom se ve vyspělých zemí výskyt předčasného porodu pohybuje přibližně „jen“ kolem 8-10%? V roce 2014 byla publikována první významná práce, která popisuje dutinu děložní jako nesterilní orgán [ 5 ]. Pozornost ve výzkumu se poté dále obrátila ke studiu imunologických mechanismů stojících v pozadí spontánní prematurity. Přibyla řada informací o tom, že

neadekvátní interakce vrozených i získaných složek imunitního systému matky a vyvíjejícím se plodem může být důležitým faktorem spouštějící předčasný porod [ 6,7 ]. Některé vědecké autority dále spekulují, že výsledek těhotenství může být závislý i na modulaci těchto pochodů mikrobioty lidského těla [ 8 ]. Nicméně do současnosti zatím nejsou k dispozici žádné práce, které by uvedené vztahy dokládaly. Přítomnost samotných mikroorganismů v porodních cestách matky s sebou tedy nutně nemusí nést předčasný porod, na druhou stranu, řada z nich může nepříznivě ovlivnit poporodní adaptaci novorozence. Mezi takové mikroorganismy patří především již zmiňované streptokoky skupiny B a atypické mikroorganismy jako např. *Ureaplasma urealyticum*. Pohybujeme se v éře velmi rychlého přibývání informací, součástí této práce je shrnutí co nejaktuálnějších poznatků v oblasti patofyziologie předčasného porodu. Budeme-li znát detailněji, nejen imunologické, mechanismy vedoucí k předčasnému porodu, je možné předpokládat jejich modulaci různými opatřeními [ 9 ]. Nejvíce prací se zabývá studiem role T regulačních lymfocytů a komplementu v patogenezi předčasného porodu. T regulační lymfocyty představují subpopulaci, která je v našem organismu zodpovědná za toleranci selfantigenů a paternálních antigenů. Předpokládáme, že snížení jejich počtu i abnormální funkce jsou zapojeny do patogeneze předčasného porodu i preeklampsie [10, 11] . O úloze komplementu v patogenezi spontánního předčasného porodu zatím příliš mnoho prací není. Dílčími cíli habilitační práce je představit naše výzkumné projekty, které, jak věříme, mohou přispět k poznatkům o patofyziologii předčasného porodu.

### *1.3 Základní rysy managementu předčasného porodu*

Souběžně s poznatky teoretickými došlo k posledních letech k velmi rychlému rozvoji i v oblasti managementu předčasného porodu. Česká republika patří k zemím se špičkovou péčí o předčasně rozené děti. Dovolím si říci, že to není jen zásluha našich neonatologů, ale také díky skvělé organizaci péče, která je soustředěna do dvanácti perinatologických center. Do těchto zařízení probíhá „transport in utero“ ( matka je převezena ještě s dítětem v děloze ) z menších nemocnic, které nemají možnost zajištění péče o předčasně narozené děti v nízkých váhových kategoriích ( přibližně pod hranici 32.ukončeného týdne těhotenství ) . Péče tak může být centralizována do porodnických zařízení s neonatologickým zázemím, kde jsou k dispozici adekvátní personální a přístrojové možnosti . Péče o těhotné/rodičky a případně předčasně rozené děti zde probíhá v souladu s nejnovějšími poznatky. Hlavním cílem porodnického managementu je prodloužení těhotenství a snížit riziko mortality a morbidit novorozenců [ 12 ]. Dosažená délka těhotenství je nejvýznamnějším prognostickým ukazatelem krátko- i dlouhodobé morbidit dětí. K tomuto účelu slouží aplikace tokolytik ( látky blokující děložní

činnost), glukokortikoidů k indukci plicní zralosti plodu a v případě předčasného předtermínového odtoku plodové vody ještě navíc podání antibiotik. V případě zachovalé plodové vody se podávají antibiotika jen v rámci intrapartální profylaxe infekcí streptokokem skupiny B, v případě podezření na intraamniální zánětlivý proces a při průkazu závažných sexuálně přenosných mikroorganismů, jako jsou např. *Neisseria gonorrhoe* a *Chlamydia trachomatis* [ 13 ]. Pracoviště Gynekologicko-porodnické kliniky 1.LF UK v Praze navíc koncentruje podskupinu těhotných a rodiček, kterým hrozí předčasný porod na hranici viability ( životaschopnosti ). Hovoříme o mezní oblasti, tzv. šedé zóně ( gray/grey zone ), která je ohraničena 22.ukončeným týdnem až 24+6 týdnem těhotenství. Šedou zónou se rozumí hraniční oblast, kdy je zjevné, že pod touto mezí je péče z etického i medicínského pohledu neodůvodnitelná a naopak, nad ní bychom měli učinit veškeré kroky k záchraně života dítěte [ 14 ]. Dlouholeté zkušenosti s managementem předčasného porodu nás vedly ke snaze pokusit se zlepšit výsledky tam, kde donedávna ještě nebyly uspokojivé . Dalším dílčím cílem této práce je tedy představit aktuální poznatky a naše zkušenosti v oblasti porodnického managementu předčasného porodu v šedé zóně.

## 2 Pracovní hypotézy

První tři hypotézy se zabývají aktuálním pozadím předčasného porodu, čtvrtá pak konkrétní oblastí managementu předčasného porodu. Podle všech dostupných poznatků lze předpokládat, že spontánní předčasný porod představuje vrchol dosud dlouhodobého a subklinického procesu. Celá řada prací se proto snaží odhalit pochody směřující k němu co možná nejčasněji. V současnosti nejlépe odpovídá na otázky spojené s patogenezí předčasného porodu obor reprodukční imunologie. T regulační lymfocyty hrají klíčovou roli v toleranci self-, ale i paternálních antigenů imunitním systémem matky. Zajímalo nás, zdali změny počtu T regulačních lymfocytů mohou provázet předčasný porod. Pakliže ano, je možné využít hodnocení jejich absolutního počtu - v kontextu s dalšími ukazateli - k predikci předčasného porodu? První hypotézu jsme stanovili takto: Snížení absolutního počtu T regulačních lymfocytů je spojeno s předčasným porodem. Při zjištění zkrácení děložního hrdla očekáváme vyšší riziko předčasného porodu. Většina těhotných se zkrácením děložního hrdla však porodí v termínu. Hodnocení samotné délky děložního hrdla jako nástroje predikce předčasného porodu tedy nepovažujeme za přesné vyšetření. Naši další dílčí hypotézu jsme tedy stanovili takto: Kombinované hodnocení délky děložního hrdla a absolutního počtu T regulačních lymfocytů představuje přesnější nástroj predikce předčasného porodu než samostatné hodnocení obou ukazatelů. Podle všech dostupných dat je zřejmé, že podání progesteronu vaginálně těhotným se zkrácením děložního hrdla snižuje nejen riziko předčasného porodu, ale i riziko neonatální morbidit. Zatímco prvně jmenované je intenzivně studovanou oblastí, ve které již jsou různé mechanismy působení progesteronu popsány, zatím nejsou k dispozici podrobnější informace o tom, jak podání progesteronu ovlivňuje morbiditu předčasně narozených dětí. Vědomi si protizánětlivých a imunomodulačních vlastností progesteronu jsme se rozhodli prostudovat vztah podávání progesteronu těhotným s rizikem předčasného porodu a osídlení porodních cest matky *Ureaplasma urealyticum*. Přítomnost tohoto mikroorganismu v plicích alveolech předčasně rozeného novorozence je mj. spojována s vyšší incidencí bronchopulmonální dysplazie. Druhou hypotézu jsme proto stanovili takto: Vaginálně podávaný progesteron snižuje riziko předčasného porodu a zároveň redukuje kolonizaci porodních cest mikroorganismy *Ureaplasma urealyticum*. Informace o tom, že se plod nevyvíjí ve sterilním prostředí dělohy a je obklopen mikroorganismy, nás vedly k úvahám o tom, zdali nemůže přispět k etiopatogenezi předčasného porodu (ale i jiných komplikací těhotenství) přítomnost dosud skrytého deficitu v imunitě matky. Do studie jsme vybrali jednu se složek

vrozené imunity – mannose-binding lectin (MBL) , syntetizovaný hepatocyty i četnými dalšími druhy buněk. MBL představuje protein, který je schopen mj. vázat sacharidové struktury mikroorganismů . Deficit MBL je dáván do souvislostí s vyšším rizikem různých infekcí. Zajímalo nás, jak souvisí hladiny tohoto proteinu v těhotenství s předčasným porodem. Dále jsme chtěli zjistit, zdali hladiny MBL hodnocené s odstupem po těhotenství, souvisí s výskytem předčasného porodu, ale také dalších závažných komplikací, jako jsou opakované potrácení a nevysvětlitelné fetální úmrtí. Třetí hypotézu jsme stanovili takto: Snížené hladiny MBL hodnocené v průběhu těhotenství jsou spojeny s jeho nepříznivými výsledky , především předčasným porodem a nižší porodní hmotností novorozenců. V další dílčí hypotéze jsme se zaměřili na hodnocení hladin MBL mimo těhotenství a zněla takto: snížené hladiny MBL hodnocené u žen mimo těhotenství jsou spojeny s jeho nepříznivými výsledky, konkrétně předčasným porodem, opakovaným potrácením a nevysvětlitelným fetálním úmrtím. Česká republika se může pyšnit jednou z nejnižších perinatálních mortalit na světě. Nadále však existují různé rezervy/možnosti, kam péči o těhotné a předčasně rozené děti posouvat. Jednou z oblastí, kde se spolu s neonatologymi neustále snažíme přehodnocovat dosavadní postupy, je management těhotenství s rizikem předčasného porodu na hranici viability. Výsledky několika prací z nedávné minulosti ukázaly , že je možné i v této fázi těhotenství nabídnout pacientkám - a především jejich dětem - relativně uspokojujivé výsledky . O hranici viability hovoříme jako o tzv. šedé zóně. Souborem opatření na straně porodníků a neonatologů, která takovou péči jednoduše charakterizuje, nazýváme proaktivním přístupem. Čtvrtou hypotézu jsme stanovili takto: Proaktivní přístup v šedé zóně zlepšuje šanci na přežití a nižší morbiditu předčasně rozených novorozenců.

### 3 Cíle práce

K ověření našich hypotéz jsme si stanovili tyto dílčí cíle:

- 1) Zjistit, jak souvisí hladiny T regulačních lymfocytů s předčasným porodem a pokusit se ověřit, zdali je možné změny jejich hladin využít k predikci spontánní prematurity.
- 2) Zjistit, zdali vaginálně podávaný progesteron snižuje riziko předčasného porodu a současně snižuje i kolonizaci porodních cest *Ureaplasma urealyticum*.
- 3) Zjistit, jak hladiny vybrané složky vrozené imunity mannose-binding lectinu ( MBL ) - hodnocením jeho hladin v průběhu těhotenství, i mimo něj - ovlivňují riziko nepříznivých výsledků těhotenství, především předčasného porodu a nízké porodní váhy novorozenců.
- 4) Zjistit, jak ovlivňují současné porodnické postupy v péči o ženy s předčasným porodem na hranici viability mortalitu a krátkodobou morbiditu novorozenců.

## 4 Shrnutí problematiky

V následujícím kapitole uvedu základní termíny, které v oboru materno-fetální medicína v souvislosti s předčasným porodem používáme, tj. jaká je definice a incidence předčasného porodu a pojmy perinatální mortalita a morbidita. Dále popíšu aktuální poznatky o rizikových faktorech a patofyziologii předčasného porodu. V další – klinické - části se budu věnovat popisu klinických forem předčasného porodu a managementu předčasného porodu a jeho možné prevenci.

### 4.1 Definice předčasného porodu

Předčasný porod chápeme jako porod novorozence před dosažením 37. ukončeného týdne gravidity (tedy méně než 37+0 ) [ 15 ].

Podle délky trvání těhotenství dělíme dále předčasný porod do několika základních skupin:

- pozdní předčasný (late preterm) 34+0 až 36+6
- mírný až pozdní předčasný (moderately to late preterm): 32+0 až 33+6
- velmi předčasný (very preterm): 28+0 až 31+6
- extrémně předčasný (extremely preterm) méně než 28+0

a zvláštní podskupinu představuje předčasný porod v „šedé zóně“ (grey zone) od 22+0 do 24+6 [ 16 ].

Pokud máme jako dělicí kritérium porodní hmotnost novorozenců, pak používáme následující klasifikaci:

- novorozenci s nízkou porodní hmotností (low birth weight, dále také LBW): < 2500 g
- s velmi nízkou porodní hmotností (very low birth weight, dále také VLBW): < 1500 g
- s extrémně nízkou porodní hmotností (extremely low birth weight, dále také ELBW): < 1000 g [17 ].

Hranice živostaschopnosti plodu (viability) je regionálně specifická odborná hranice, jejíž dosažení je indikátorem pro zahájení intenzivní neonatální péče. V České republice a v řadě vyspělých zemí je aktuálně hranice viability 24+0 týden těhotenství. Vybraná pracoviště ve světě, včetně našeho, však zajišťují péči i v tzv. „šedé zóně“, tj. pod oficiálně stanovenou

hranicí viability [16]. Právě proto je mj. důležité definovat rozdíl mezi porodem dítěte a potratem plodu. Zákon č. 372/2011 Sb. určuje aktuálně v ČR hranici mezi předčasným porodem a potratem následujícím způsobem:

- 1) Porodem se rozumí ukončení těhotenství narozením živého nebo mrtvého dítěte;
- 2) Za narození živého dítěte se považuje úplné vypuzení nebo vynětí plodu z těla matčina, bez ohledu na délku trvání těhotenství, jestliže plod po narození dýchá nebo projevuje alespoň jednu ze známek života, to je srdeční činnost, pulsaci pupečnicku nebo nesporný pohyb kosterního svalstva bez ohledu na to, zda byl pupečník přerušen nebo placenta připojena;
- 3) Mrtvě narozeným dítětem se rozumí plod narozený bez známek života, jehož hmotnost je 500 g a více, nelze-li porodní hmotnost určit, narozený po 22. dokončeném týdnu těhotenství, a nelze-li délku těhotenství určit, nejméně 25 cm dlouhý, a to od temene hlavy k patě.
- 4) Potratem se rozumí
  - a) spontánní potrat, to je ukončení těhotenství, kdy je embryo nebo plod neprojevující známky života samovolně vypuzen nebo vyjmut z dělohy a jeho hmotnost je nižší než 500 g, a pokud ji nelze zjistit, je-li těhotenství kratší než 22 týdnů (méně než 22+0),
  - b) umělé přerušení těhotenství provedené podle zákona upravujícího umělé přerušení těhotenství (zákon č. 66/1986 Sb., o umělém přerušení těhotenství, vyhláška MZ ČSR č. 75/1986 Sb., kterou se provádí zákon ČNR č. 66/1986 Sb., o umělém přerušení těhotenství),
  - c) ukončení mimoděložního těhotenství
  - d) případ, kdy z dělohy ženy bylo vyňato plodové vejce bez plodu, anebo těhotenská sliznice a jsou histologicky prokázány zbytky po potratu.
- 5) Umělé přerušení těhotenství provedené po 22. týdnu se nepovažuje za potrat, ale za předčasně vyvolaný porod.
- 6) Při ukončení těhotenství s více plody se posuzuje každý plod zvlášť za použití kritérií uvedených výše.

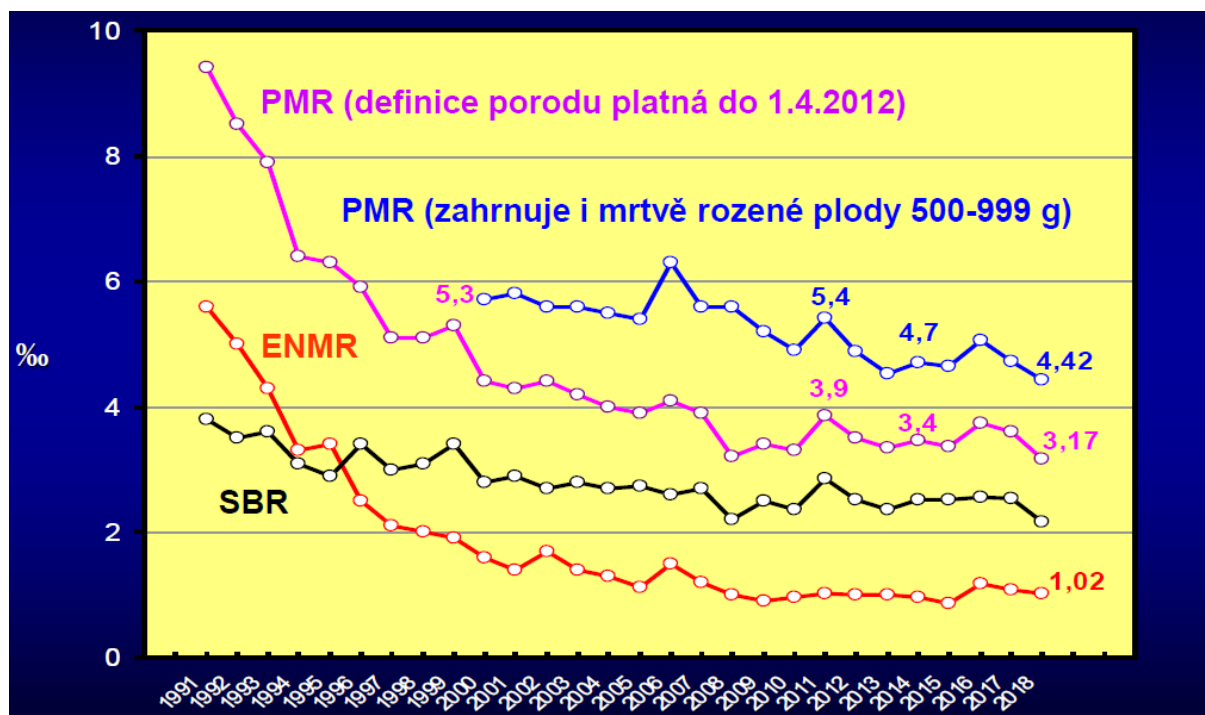
Uvedené je citací Zákona č. 372/2011 Sb. Zákon o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování a Zákona č. 147/2016 Sb., kterým se mění zákon č. 372/2011 Sb., o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování (zákon o zdravotních službách), ve znění pozdějších předpisů.



## 4.2 Perinatální mortalita a morbidita

Jak je již uvedeno, předčasný porod je spojen s určitým rizikem dlouhodobých zdravotních komplikací u dětí, ale také emočním stresem rodin, které o ně pečují. Péče o předčasně rozené děti je často velmi nákladná, stejně tak je mnohdy složité začlenit takové děti do společnosti. Předčasný porod představuje nejčastější příčinu dětské úmrtnosti (mortality). Pravděpodobnost této smutné komplikace předčasného porodu nepřímě úměrně stoupá s úrovní péče [ 18 ]. Mezi nejvýznamnější zdravotní komplikace postihující předčasně rozené děti patří, z dlouhodobého pohledu, neurologické či neuropsychiatrické problémy (dětská mozková obrna, mentální retardace, poruchy chování a učení) a chronické plicní, oční a sluchové komplikace [ 19 ]. Aby bylo možné péči porovnávat jak na národní, tak i mezinárodní úrovni, je potřeba definovat některé důležité pojmy. Perinatální úmrtnost (mortalita, PÚ ) představuje součet počtu mrtvě rozených dětí a dětí zemřelých v prvním týdnu života ( časná novorozenecká úmrtnost – ČNÚ ) přepočtený na 1000 všech narozených dětí. Novorozenecká úmrtnost (mortalita, NÚ) je počet dětí zemřelých do konce novorozeneckého období, tj. do 28.dne po porodu. Česká republika dosahuje dlouhodobě velmi nízkých hodnot perinatální úmrtnosti, viz graf. č. 1. Pro orientaci mezi pojmy v grafu je důležité zmínit, že do zákonné úpravy r. 2012 platila poněkud odlišná definice porodu. Mezi mrtvě rozené děti se řadily až plody s váhou nad 1000 gramů, pod touto hranicí se jednalo o potrat.

**Graf č. 1** – Vývoj perinatální úmrtnosti - PÚ ( perinatal mortality – PMR ), mrtvorozenosti ( SBR – stillbirth ) a časně novorozenecké úmrtnosti – ČNÚ ( early newborn mortality rate – ENMR) v ČR od r. 1991

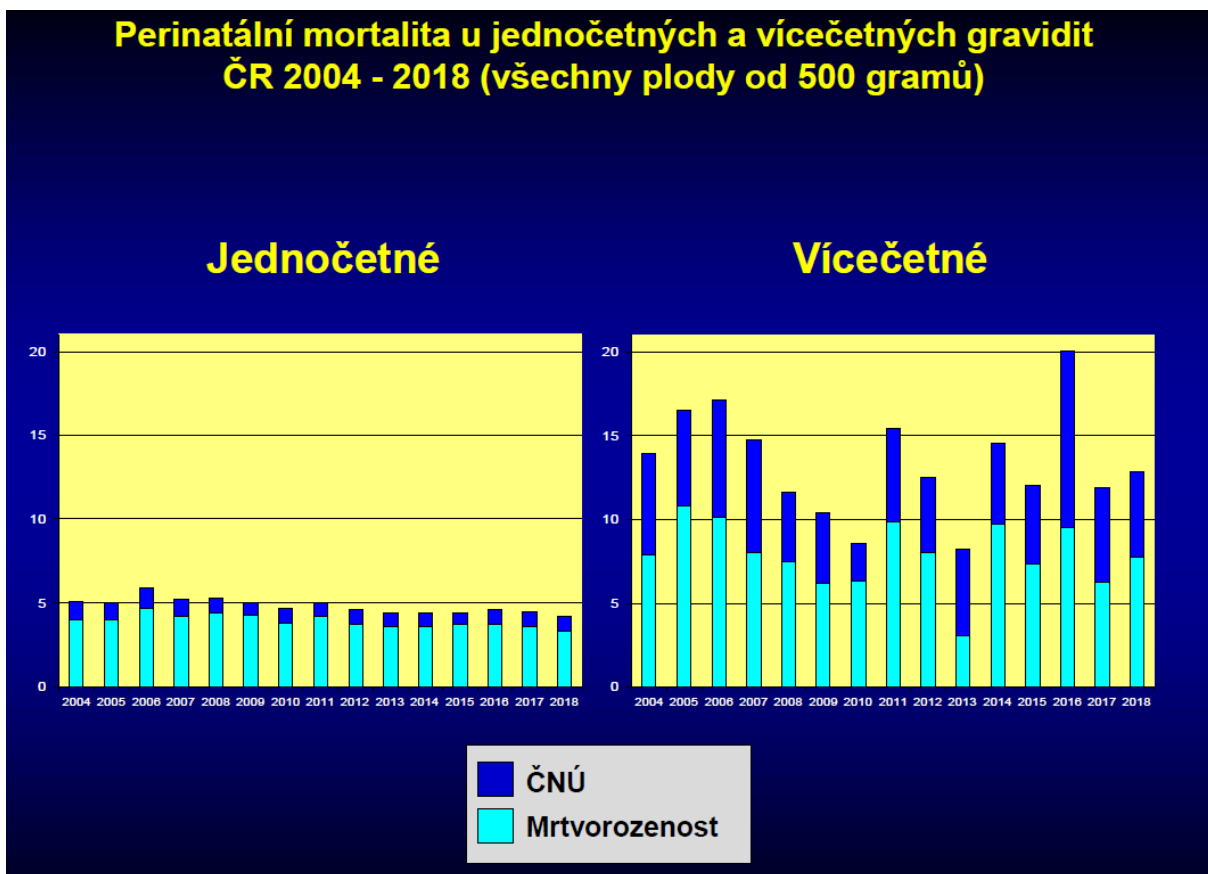


Zdroj: Velebil P. Sekce perinatologie a fetu-maternální medicíny ČGPS ČLS JEP

Jedním z hlavních důvodů těchto skvělých výsledků je tzv. centralizace péče o těhotné a novorozence. Daří se tak mj. zavedením tzv. „transportu in utero“. Pokud to zdravotní stav ženy umožňuje, je těhotná žena/rodička transportována na vyšší pracoviště, které je schopno zajistit péči jak po personální, tak přístrojové a materiální stránce. Nejčastěji se jedná právě o těhotné/rodičky s hrozícím předčasným porodem. Nejvyšší odborná úroveň péče probíhá v tzv. perinatologických centrech. Zde jsou koncentrovány těhotné ženy a rodičky s různými komplikacemi do přibližně 32.týdne těhotenství. Stejně je zajištěna odborně i materiálně péče o předčasně rozené děti ze strany neonatologů. Perinatologická centra propojují poskytování zdravotní péče v oborech gynekologie a porodnictví a neonatologie s cílem zajistit kontinuitu péče o těhotnou ženu, plod a novorozence. Tato mezioborová péče vyžaduje těsnou spolupráci, v níž jsou jednotlivé obory vzájemně nezastupitelné. V ČR je v současnosti dvanáct perinatologických centrech, nacházejí se ve všech krajích. V anglosaském písemnictví se tato centra nazývají terciární. Tzv. intermediární centra zajišťují v současnosti péči o těhotné, rodičky a novorozence mezi 32.-36.týdnem těhotenství, v anglosaském písemnictví nazývaná sekundární. Tzv. primární pracoviště představují porodnicko-gynekologická zařízení, která

zajišťují péči o těhotné po 36. ukončeném týdnu. Jak již bylo uvedeno, perinatální mortalita představuje součet dvou položek, tj. počtu dětí mrtvě rozených a počtu dětí časně zemřelých do 7 dní porodu – časná neonatální úmrtnost. Následující graf č. 2 ukazuje, že je mrtvorozenost u jednočetných těhotenství za řadu posledních let přibližně stejná a nedaří se příliš snížit její výskyt. Mrtvorozenost u vícečetných gravidit představuje odlišnou kapitolu, jak je i z grafu patrné, vyskytuje se u nich významně častěji, aniž jsme schopni určit obecnou příčinu.

**Graf. č. 2** Perinatální mortalita u jednočetných a vícečetných gravidit ČR 2004-2018 u všech plodů nad 500 gramů. Vertikální osa představuje promile výskytu případů, horizontální osa jednotlivé roky sledování

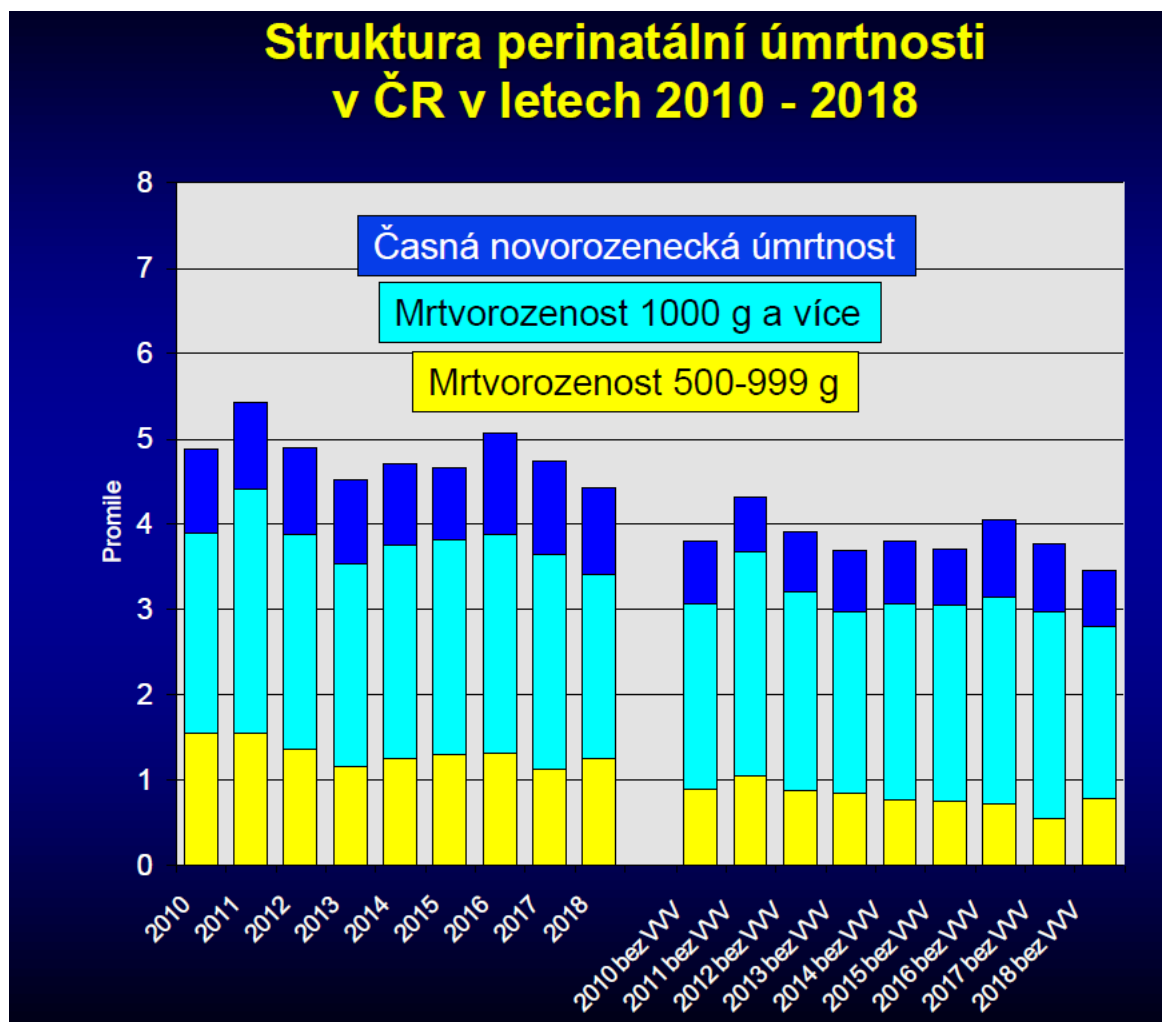


Zdroj: Velebil P. Sekce perinatologie a fetu-maternální medicíny ČGPS ČLS JEP

Nejčastější příčinu časné novorozenecké úmrtnosti představuje vlastní nezralost dětí. Organizační opatření a celkové zlepšování kvality péče přispěly k tomu, že se především tato složka perinatální mortality podílela na jejím postupném snižování. Nicméně v posledních letech je již přibližně na stejné úrovni – viz graf č. 3. Z grafu je také patrná nižší incidence

obou složek perinatální mortality, pokud jsou „očištěny“ od plodů s vrozenými vývojovými vadami ( VVV )

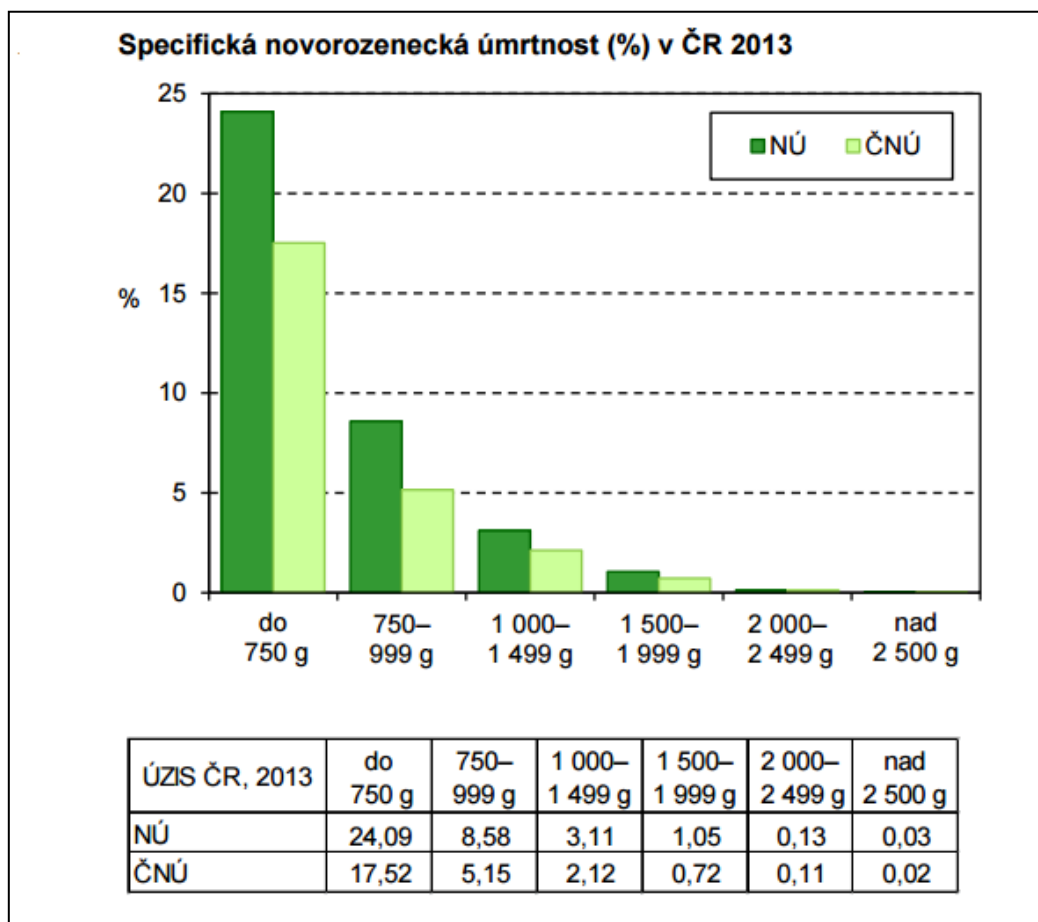
**Graf č. 3** – Struktura perinatální úmrtnosti v ČR v letech 2010 – 2018. Vertikální osa představuje promile výskytu případů, horizontální osa jednotlivé roky sledování



Zdroj: Velebil P. Sekce perinatologie a fetu-maternální medicíny ČGPS ČLS JEP

Podle dosavadních dat je zřejmé, že vyhlídky novorozenců na přežití se výrazně zvýší po dosažení porodní hmotnosti alespoň 750 g. Následující graf č. 4 uvedené potvrzuje a zároveň také poukazuje na fenomén podílu „odložených“ úmrtí po 1. týdnu života, kdy je patrný rozdíl mezi časnou (ČNÚ) a celkovou neonatální úmrtností (NÚ) ve váhové kategorii pod 750 gramů. Dále je z údajů také zjevné, že do váhy 1 500 g je podíl úmrtí po prvním týdnu života novorozenců v ČR zhruba třetinový. U vyšších váhových kategorií je již rozdíl mezi časnou a celkovou novorozeneckou úmrtností nižší.

**Graf č. 4** Specifická časná ( ČNÚ ) a celková ( NÚ ) novorozenecká úmrtnost v procentech v jednotlivých váhových kategoriích v ČR dle dat ÚZIS, r. 2013. Vertikální osa grafu představuje procenta výskytu úmrtí, horizontální osa jednotlivé váhové kategorie novorozenců v gramech. Tabulka ukazuje, v kolika procentech dojde k časnému neonatálnímu úmrtí ( ČNÚ, tj. do 7.dne po porodu) a neonatálnímu úmrtí ( NÚ, tj. do 28.dne po porodu ) v jednotlivých váhových kategoriích.



Zdroj : Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, ÚZIS ČR.

**Graf č. 5** ukazuje, jak ovlivňuje porodní váha perinatální mortalitu a zároveň, jak souvisí perinatální mortalita s centralizací péče v perinatologických a intermediárních centrech ve srovnání s péčí o takto nezralé novorozence v centrech primární péče ( ostatní ) . Je zcela zjevné, že se výsledky mezi specializovanými perinatologickými centry a ostatními pracovišti významně liší v kategorii velmi nízké porodní hmotnosti novorozenců, tj. přibližně pod 1500 gramů.

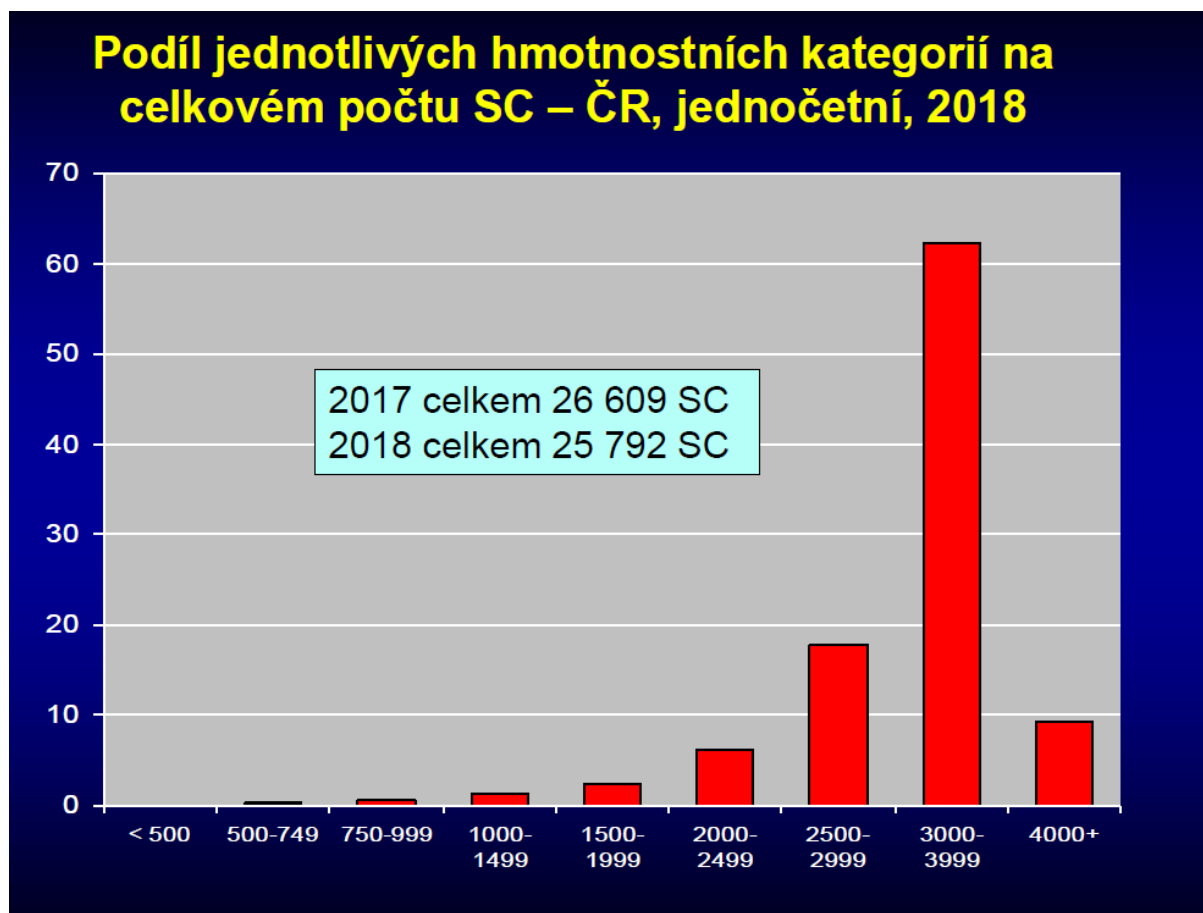
**Graf č.5** Specifická perinatální mortalita, tj. úmrtnost podle porodní hmotnosti, za roky 2017 a r. 2018 . Číselné údaje uvedené v tabulce ukazují, jaká jsou promile úmrtí v jednotlivých váhových kategoriích.

ČR	Specifická perinatální mortalita v kategoriích hmotnosti do 2500 g			
	Perinatální centra intenzivní péče		Ostatní	
Hmotnost	2018	2017	2018	2017
<i>gramy</i>	<i>1/1000</i>		<i>1/1000</i>	
<b>500-749</b>	396,23	388,33	911,11	816,33
<b>750-999</b>	152,94	76,12	534,88	558,14
<b>1000-1499</b>	59,70	51,82	211,01	237,76
<b>1500-1999</b>	31,85	27,44	34,21	46,15
<b>2000-2499</b>	10,55	11,87	10,56	13,25

Zdroj: Velebil P. Sekce perinatologie a fetu-maternální medicíny ČGPS ČLS JEP.

Graf č. 6 ukazuje, jak se na celkovém počtu císařských řezů u jednočetných těhotenství podílejí předčasné porody. Z grafu je patrné, že je frekvence císařských řezů v nejnižších týdnech těhotenství velmi nízká. Císařský řez, jak bude uvedeno dále, patří mezi jedno z opatření tzv. proaktivního přístupu v této oblasti

**Graf č. 6** Podíl jednotlivých hmotnostních kategorií na celkovém počtu císařských řezů ( SC ) v ČR u jednočetných těhotenství v r. 2018. Vertikální osa ukazuje procenta výskytu, horizontální osa ukazuje váhové kategorie novorozenců v gramech.



Zdroj: Velebil P. Sekce perinatologie a fetu-maternální medicíny ČGPS ČLS JEP.

### 4.3 Incidence předčasného porodu

Za poslední dvě dekády zůstává incidence předčasného porodu prakticky beze změn a to navzdory lepšímu pochopení rizikových faktorů i patofyziologie předčasného porodu [ 20 ]. Celková neonatální mortalita postupně klesá, nicméně incidence předčasného porodu je přibližně stejná. Například v r. 2013 byla v Německu 8,7 %, v Brazílii 10,7 % a v USA 12 % [ 21, 22 ]. Převážná většina ( 85% ) předčasných porodů se vyskytuje v méně vyspělých či rozvojových zemích Afriky a Asie, kdy jsou zdravotní systémy i péče často nefunkční [ 23 ]. V České republice se incidence předčasného porodu za poslední dekádu pohybuje přibližně kolem 8% , s mírným trendem k poklesu.

## 4.4 Rizikové faktory předčasného porodu

Již řadu let jsou známy rizikové faktory předčasného porodu. Tyto by neměly být zaměňovány za jeho patofyziologické spouštěcí mechanismy. Na druhou stranu, s některými příčinami se rizikové faktory jistě pomohou překrývat, jak uvedu dále. Rizikové faktory lze v této souvislosti chápat jako soubor jevů a vlivů, které zvyšují pravděpodobnost předčasného porodu. V následující kapitole uvádím výčet rizikových faktorů, které lze rozdělit na tři skupiny. První skupinu zahrnují základní mateřské epidemiologické charakteristiky, jako jsou genetická predispozice, rasa, vzdělání, socioekonomický status, abus, výživové zvyklosti a infekce v porodních cestách. Druhou skupinu představují anamnestické reprodukční údaje, tj. především anamnéza předchozího předčasného porodu, vrozené vady dělohy, zákroky na děložním hrdle. Třetí skupinu tvoří skupina rizikových faktorů, které se nově objevují v aktuálním těhotenství.

### 4.4.1 Genetická predispozice

O sklonu k předčasnému porodu na základě genetické predispozice již bylo publikováno velké množství prací. První práce se zabývaly především nespécifickými souvislostmi. Např. Winkvist uvádí, že ženy, jejichž sestry porodily předčasně, mají 1,8 krát větší riziko předčasného porodu [ 24 ]. Většina z dalších odborných studií se zabývala mutacemi a polymorfismy genů, které kódují oblasti zodpovědné za funkci imunitního systému organismu. Menon ve své práci jako první uvedl, že jsou polymorfismy genů pro prozánětlivé cytokiny TNF-alfa a interleukin-6 spojeny s rizikem spontánního předčasného porodu [ 25 ]. V další práci Romero zjistil, že ženy s mutací genu pro TNF-alfa ( alela 2 ) a současně se vyskytující bakteriální vaginózou mají 10x vyšší riziko předčasného porodu než ženy s bakteriální vaginózou bez výše uvedené mutace. Jako první upozornil na to, že sama genetická predispozice nemusí být významná, ale že může v patogenezi předčasného porodu hrát důležitou roli interakce genů a prostředí [ 26 ]. Nedávná celoxomová sekvenční genetická studie identifikovala vzácné mutace genů kódující proteiny zapojené do negativní regulace (tlumení) vrozené imunitní odpovědi (např. CARD6, CARD8, NLRP10, NLRP12, NOD2, TLR10) a antimikrobiálních peptidů ( proteinů DEFB1, MBL2). Tato zjištění podporují myšlenku, že předčasný porod má zánětlivou etiologii, na které se mohou podílet jak mikrobi, tak i „nebezpečné signály“, tj. alarminy neboli DAMPs, uvolněné během buněčného stresu nebo nekrózy. DAMPs neboli damage (danger) – associated molecular patterns jsou molekuly, které zahajují a současně podporují zánětlivou odpověď neinfekčního původu [ 27 ].



#### *4.4.2 Demografické a psychosociální rizikové faktory*

Data z USA a Velké Británie ukazují, že k předčasnému porodu dochází téměř dvakrát častěji u černé afroamerické a afro-karibské rasy než u asiátů, hispánců a kavkazské bílé rasy [28]. Smith a Thompson uvádějí, že riziko předčasného porodu klesá s vyšším vzděláním a naopak, nižší socioekonomický status a vzdělání, absence partnera a věk pod 20 let a nad 35 let riziko předčasného porodu zvyšují [29,30]. Další nespecifický rizikový faktor spojovaným s vyšší pravděpodobností předčasného porodu představuje stres. Stres během těhotenství představuje značně nespecifickou skupinu různých osobních či socioekonomických problémů, jako jsou ztráta člena rodiny, rozvod, ztráta zaměstnání apod. Ruiz a Kiecolt-Glaser se zabývali významem uvedených faktorů a zjistili v této skupině mírně vyšší výskyt předčasného porodu [31,32].

#### *4.4.3 Vliv výživy a návykových látek*

Není překvapením, že mateřská váha může souviset s předčasným porodem. Hendler ve své práci uvádí, že nízký body mass index (BMI) pod 19 je spojen s rizikem prematurity a naopak vyšší BMI jak 30 by mohl být ochranným faktorem [33]. Recentní metaanalýza Torloni však uvádí jiné údaje a sice, že riziko předčasného porodu stoupá především u morbidně obézních žen s BMI nad 35 [34]. Jak je zřejmé, není možné chápat samotnou váhu těhotné jako samostatný rizikový faktor a pozornost se dále více zaměřila na skladbu stravy žen plánujících těhotenství a již těhotných žen. Např. Grieger uvádí, že vyvážená strava bohatá na ovoce, zeleninu, vysoký obsah kvalitních bílkovin a celozrnné potraviny s sebou nese nižší riziko předčasného porodu proti vysokoenergetické stravě obsahující převahu tuků a cukrů [35]. Rozsáhlá Norská mateřská a dětská kohortová studie (Norwegian Mother and Child Cohort Study) poukazuje na zjevný ochranný vliv nenasycených mastných kyselin přijímaných buď ve stravě bohaté na ryby nebo suplementací výživovým doplňkem v podobě tablet proti ženám, které ve stravě uvedené nemají zajištěné [36]. Myhre ze stejné výzkumné skupiny uvádí, že konzumace probiotik v podobě potravinových doplňků či potravin jako takových se také podílí na snížení rizika předčasného porodu a dětských alergických onemocnění [37, 38]. O nespecifickém vlivu kouření na výskyt předčasného porodu byla publikována řada prací a všechny se shodují na zjevně vyšším riziku jeho výskytu [39, 40]. Zatím nebyl zaznamenán žádná souvislost mezi nadužíváním alkoholu či abúzem drog [41]. O úloze potravinových doplňků ze skupiny vitamínů bylo již také publikováno větší množství prací. Poslední rozsáhlá metaanalýza poukazuje na možnou ochrannou úlohu folátů v sekundární prevenci předčasného

porodu [ 42 ]. Další metaanalýza Qin et al prokázala, že ženy s nedostatečnými hladinami vitamínu D ( $< 20 \text{ ng/mL}$  ) mají významně větší pravděpodobnost předčasného porodu [ 43 ]. Další podobná práce uvedené potvrzují a poukazují na úspěšnost suplementace vitamínem D v snížení rizika prematurity [ 44 ].

#### 4.4.4 Úloha infekce

Infekce je v současnosti považována nejen za nespecifický rizikový faktor, ale zároveň nejdiskutovanější příčinou předčasného porodu. Souvislost mezi prokázanou genitální a extragenitální infekcí a předčasným porodem je známa již řadu let [ 45 ]. Velké množství prací toto téma dále rozvíjela a studovala a nemalý počet z nich pocházel z týmu prof. Romera. Z extragenitálních infekcí byla prokázána souvislost s předčasným porodem zejména u pyelonefritis, asymptomatické bakteriurie, periodontitis a apendicitis [ 46,47,48,49,50 ]. Nejvíce diskutovaným mechanismem, který by vysvětloval vztah extragenitálních infekcí k předčasnému porodu, je hematogenní způsob šíření mikroorganismů do porodních cest. Ale přesné vysvětlení, jakým způsobem mohou bakterie mimo genitální trakt spustit předčasný porod, dosud není známo. Logicky se nabízí vysvětlení, že nejpravděpodobněji může spustit předčasný porod infekce přímo v porodních cestách. Řadu let je vnímáno i prosté narušení normální poševní mikroflory jako jeden z významných rizikových faktorů předčasného porodu. Za fyziologických podmínek dominují v pochvě acidofilní laktobacily z rodu *Lactobacillus species*. Tento řád ( *Lactobacillaceae* ) je rozdělen na řadu druhů a z posledních dat jasně vyplývá, že je nutné vnímat tyto mikroby jako značně nehomogenní skupinu [ 51 ]. Přítomnost některých druhů laktobacilů ( *Lactobacillus crispatus* ) v pochvě v průběhu těhotenství je spojena s nízkým rizikem předčasného porodu a přítomnost některých ( *Lactobacillus iners* ) naopak s vysokým [ 52 ]. Podrobněji se budu věnovat této oblasti v dalším textu v kapitole o úloze mikrobiomu v etiopatogenezi předčasného porodu. V současnosti je v literatuře používán pojem poševní ekosystém. Poševní ekosystém tvoří několik faktorů, jakou jsou systémové a lokální koncentrace hormonů, především estrogenů, slizniční imunitní systém, endogenní poševní flóra a kyselé poševní prostředí. Stabilita kyselého poševního prostředí je zajišťována štěpením glykogenu na kyselinu mléčnou laktobacily [ 53 ]. Důležitou složkou vaginálního ekosystému je i adekvátní funkce imunitního systému [ 54 ]. Řadu let je studován vztah mezi osídlením (prostá přítomnost) nebo přímo infekcí (zjevné klinické projevy) různých mikroorganismů k předčasnému porodu. Kolonizace porodních cest bakterií *Escherichia coli* je prokazatelně spojena s rizikem předčasného porodu [ 55 ]. Podobně, výskyt streptokoka skupiny B ( *Streptococcus agalactiae* ) v porodních cestách je spojen nejen s rizikem adnatní

infekce novorozenců, ale také s významně vyšším rizikem předčasného porodu [ 56 ]. Dosud však není prokázáno, že by systémové podání antibiotik v průběhu těhotenství - s cílem omezit/vymýtit přítomnost různých mikroorganismů v porodních cestách - snížilo riziko předčasného porodu [ 57 ]. V současnosti je systémové podání antibiotik prokazatelně prospěšné až během porodu ( v případě kolonizace streptokoky skupiny B v porodních cestách ) s cílem snížit riziko adnatní sepse novorozence [ 58 ]. Další situací, kde systémové podání antibiotik přináší prospěch, je předčasný předtermínový odtok plodové vody ( PPRM – preterm prelabor rupture of membranes) [ 59 ] . Výskyt typických sexuálně přenosných infekcí, jako jsou *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoe* a *Treponema pallidum* zvyšuje riziko předčasného porodu dvojnásobně, ale ani zde příslušná léčba riziko předčasného porodu nesnižuje [ 60 ]. Bakteriální vaginóza je charakterizována relativním poklesem počtu přirozených aerobních lactobacillů, vzestupem počtu anaerobních (tzv. vláknitých) lactobacillů, *Gardnerel* a *Mykoplasmat* a převážně anaerobních bakterií, jako jsou kmeny *Bacteroides*, *Peptostreptococcus* a *Mobiluncus*. Bakteriální vaginóza není považována za infekci, ale „pouze“ za narušení poševního eko systému. Je charakterizována tzv. Nugentovými kritériemi, kdy jsou mj. v nativním stěru z pochvy přítomné tzv. clue cells ( buňky poševní sliznice pokryté bakteriemi, zrnitého vzhledu) [ 61 ]. Bakteriální vaginóza je v současnosti chápána jako jeden z nejvýznamnějších rizikových faktorů předčasného porodu, souvislosti jsou dlouhodobě známy. Bohužel ani zde není k dispozici žádný důkaz o tom, že by cílená léčebná úprava narušeného poševního ekosystému snížila pravděpodobnost předčasného porodu [ 62, 63 ] .

#### 4.4.5 Reprodukční anamnéza

Ženy, které mají v anamnéze předčasný porod mají přibližně dvojnásobně vyšší riziko předčasného porodu v následné graviditě a to následně stoupá nepřímo úměrně tím, čím dříve předchází předčasný porod proběhl. Vyšší riziko lze očekávat , porodila – li žena předchází dítě před 32.týdnem [ 64, 65 ]. Ve skupině žen s vrozenými vadami dělohy je také patrný vyšší výskyt předčasného porodu [ 66 ]. Vyšší pravděpodobnost předčasného porodu nalzáme také ve skupině žen s anamnézou interrupce a chirurgickými zákroky na děložním hrdle. Jako možná souvislost se nabízí poranění uzávěrového aparátu děložního hrdla u konizací a poškození endometria v případě intrauterinních výkonů [ 67, 68 ].

#### *4.4.6 Rizikové faktory v aktuálním těhotenství*

Krvácení z rodidel ( z dělohy ) v I.a II.trimestru ( není – li znám jeho přesný původ ) , je spojeno s následným předčasným porodem, obzvláště, je-li krvácení rekurentního či intermitentního přetrvávajícího charakteru [ 69 ]. Další faktor, který se významně podepisuje na riziku prematurity, představuje asistovaná reprodukce. Asistovanou reprodukcí (AR) se rozumí soubor postupů, které jsou zakončeny „in vitro fertilizací“ a následně transferem embrya do dělohy ( včetně kryoembryotransferu – přenos„rozmražených“ embryí uchovaných z předchozího cyklu „in vitro fertilizace“ ). Různé analýzy jednoznačně prokázaly, že AR zvyšuje riziko předčasného porodu až trojnásobně [ 70, 71 ]. Podobně, indukce ovulace, která nepatří mezi techniky AR a může ji zajistit i praktický gynekolog, zvyšuje riziko předčasného porodu stejnou měrou [ 72 ]. S AR a indukcí ovulace úzce souvisí výskyt vícečetných těhotenství, jejichž incidence se přímo úměrně dlouhodobě zvyšovala. Se změnou metodiky a přenosy jen jednoho embrya se v posledních letech výskyt vícečetných těhotenství po AR postupně snižuje [ 73 ]. Nicméně, nadále platí, že s sebou vícečetné těhotenství nese šestinásobně vyšší riziko předčasného porodu ve srovnání s jednočetným těhotenstvím [ 74 ].

### **4.5 Patofyziologie předčasného porodu**

V této kapitole nejprve uvedu obecný pohled na patofyziologii předčasného porodu. V dalším textu se pokusím nastínit stávající představy o možných spouštěcích příčinách spontánního předčasného porodu, především jaké jsou v současné době poznatky o roli mateřské imunity a mikrobiomu v patofyziologii předčasného porodu.

#### *4.5.1 Obecný pohled na patofyziologii předčasného porodu*

V předcházejí kapitole jsem uvedl skupinu nescifických rizikových faktorů, jejichž přítomnost je spojena s vyšším rizikem předčasného porodu. V této kapitole se již pokusím nastínit, jaký je současný souhrnný pohled na patofyziologii předčasného porodu. Studium patofyziologie předčasného porodu se zabývá již několik generací odborníků, náhled na tuto problematiku se neustále vyvíjí. V odborné literatuře se většina autorů shoduje na tom, že jsou mechanismy vedoucí ke předčasnému i termínovému porodu stejné . Oba typy porodů totiž provázejí identické pochody na úrovni myometria, plodových obalů i děložního hrdla, hovoříme o tzv. „společné dráze“ předčasného a termínového porodu [ 75,76 ]. Hlavní rozdíl

však představuje odlišná aktivace, jak z etiologického, tak časového pohledu. Zatím máme jen velmi omezenou představu o tom, jak vypadá fyziologická aktivace procesů vedoucích k termínovému porodu. Předpokládáme, že se jedná o komplexní proces, ve kterém plod a matka spolu „kooperují“ a významnou roli přitom hrají placenta a plodové obaly. Z experimentů na zvířatech vyplývá, že termínový porod spouští aktivace fetální hypotalamo-hypofyzární-adrenální osy, v jejímž důsledku pokračuje stimulace syntézy steroidů, které podporují produkci prostaglandinů [ 77,78,79,80,81 ]. V etiopatogenezi předčasného porodu se řadu let diskutuje více možných příčin a nejčastěji se hovoří o předčasném porodu jako syndromu. Jako jeden z prvních formuloval tuto tezi prof. Romero. Po mnoho let, až do současnosti, se většina literárních prací a autorů z řad porodníků a specialistů z oboru materno-fetální medicíny shoduje na tom, že se na mechanismech vedoucích k předčasnému porodu mohou podílet: infekce, uteroplacentární ischémie a deciduální hemorrhagie, porucha imunologické tolerance plodu matkou ( „fetus as an allograft“ ), alergie, nadměrné rozpětí dělohy, inkompetence děložního hrdla, abnormální působení progesteronu a mateřský a fetální stres [ 4, 82, 83, 84 ]. O aktuálním pohledu na způsob aktivace, tj. etiopatogenezi předčasného porodu, bude pojednáno v dalším textu. Jak je již uvedeno výše, termínový a předčasný porod se sice liší způsobem a časem aktivace, nicméně poté již probíhá tzv. společná dráha ( angl. common pathway ), v rámci které probíhají biochemické, anatomické, endokrinologické, imunologické a klinické změny na straně matky a plodu. Společná dráha předčasného a termínového porodu s sebou nese procesy, které jsou charakterizované následujícími změnami v cílových tkáních: změnou vzorce kontraktility děložního myometria, remodelací děložního hrdla a aktivací ( senescencí – stárnutím – pozn.autora) deciduy a plodových obalů. Tyto pochody buď probíhají synchronně či asynchronně. Pro spontánní termínový porod je charakteristický synchronní průběh, pro spontánní předčasný porod naopak spíše asynchronní, což může vést k rozdílnému klinickému obrazu. Příkladem může být předčasný předtermínový odtok plodové vody (PPROM – preterm prelabor rupture of membranes ) charakterizovaný převažující izolovanou aktivací deciduy a plodových obalů [ 82 ]. V souhrnu lze říci, že zatím neznáme přesnou etiologii či aktivační signál k počátku předčasného či termínového porodu. Víme však, že po spuštění procesu probíhají velmi rozsáhlé a často dlouhodobé a skryté změny postihující myometrium, děložní hrdlo, deciduu a plodové obaly. Prostaglandiny jsou zodpovědné za zprostředkování všech uvedených změn v cílových tkáních. Ať už se jedná o termínový či předčasný porod, jsou k dispozici důkazy o tom, že jsou ve všech částech společné dráhy zapojeny systémy realizující zánětlivou odpověď organismu [ 85, 86, 87 ]. Zánět je definován jak odpověď vaskularizovaných orgánů na zevní podnět. Od dob Galéna a Celsa

(zánět charakterizovali zvýšenou teplotou, bolestí, zarudnutím a otokem a narušením funkce) přibyl s vývojem medicíny poznatek, že jsou všechny změny důsledkem působení cytokinů, chemokinů a ostatních prozánětlivých látek lokálně ovlivňujících cévy a tkáň. Dalším aspektem hodnocení zánětu je jeho histologické vyjádření. Histologický zánět je definován infiltrací tkáňe neutrofilů, makrofágy a lymfocyty [ 88 ]. Všechny výše uváděné subklinické i histologické změny jsou v průběhu předčasného i termínového porodu pozorovány, podrobněji v následujícím textu. Zánět lze rozdělit jednak na lokální ( ohraničeně v určité části těla ) a systémový ( záněťová odpověď probíhá celotělově, neohraničeně ). Dále je z jiného pohledu dělen na obranný a autoagresivní, podle toho, jaký je výsledný efekt na cílové tkáňe, případně celý organismus. Mezi systémy, které mají klíčovou úlohu v zánětlivém procesu, patří endotel, krevní destičky, leukocyty, plazmatický koagulační systém a komplement. Řada mediátorů produkovaných těmito systémy má schopnost poškozovat i vlastní tkáňe , proto je základní podmínkou zánětu jako obranného fenoménu lokalizace a regulace zánětlivých procesů. Dysregulace a delokalizace je typická pro autoagresivní zánět [ 89 ]. Podle dostupných dat lze soudit, že patogenetickým podkladem předčasného porodu je dysregulovaný zánět [ 90 ]. Infekce stále představuje nejdiskutovanější příčinu předčasného porodu . Při infekci vstupují do tkáňe makrofágy, neutrofilů a lymfocyty. Molekuly, uvolňované v reakci na přítomnost mikrobů, mohou dále stimulovat neutrofilů/makrofágy k tvorbě reaktivních forem kyslíku ( hydroxylový radikál OH , superoxidový aniontový radikál O<sub>2</sub><sup>-</sup> ). Reaktivní formy kyslíku produkované takto v obrovském množství mají nejen cytotoxický potenciál proti bakteriálním buňkám, ale mohou působit i autoagresivně. Způsobují peroxidaci membránových fosfolipidů, poškozují membránové i řadu plazmatických proteinů, i nukleové kyseliny. Produkty poškozených tkáňe patří mezi skupinu látek nazývaných jako DAMPs ( Damage Associated Molecular Pattern molecules ) neboli alarminy [ 91, 92 ]. DAMPs však nevznikají jen v důsledku působení mikroorganismů a naopak, bakterie mohou aktivovat zánětlivý proces přímo jako tzv. PAMPs. PAMP (z angl. pathogen-associated molecular patterns) jsou molekulární struktury („vzory“) představující vysoce konzervované struktury přítomné na povrchu rozsáhlých skupin mikroorganismů. Mezi PAMPs patří z nukleových kyselin např. RNA, pilin, flagellin, lipopolysacharidy a mannan [ 93 ]. Mezi zástupce DAMPs patří zástupci stresem indukovaných proteinů ( HSPs – heat shock proteins) a high mobility group box-1 ( HMGB-1). Pro jejich rozpoznání exprimuje řada buněk ( dendritické buňky, makrofágy, monocyty, neutrofilů a epitelální buňky ) v organismu tzv. pattern-recognition receptors ( PRR) . Navázání DAMPs/PAMPs na PRR představuje jeden ze základních nástrojů vrozené imunity a tedy první obranné linie organismu do doby než se vyvine specifická adaptivní

imunita [ 94 ]. Na základě jejich umístění v buňce rozlišujeme PRR navázané na membránu a cytoplazmatické PRR. PRR vázané na membránu zahrnují skupiny Toll-like receptorů (TLR) a C-lektinové receptory (CLR). Cytoplazmatické PRR zahrnují NOD-like receptory (NLR) a RIG-I-like receptory (RLR). Nejvýznamnější a nejlépe prostudovanou podskupinu PRR představují Toll-like receptory - TLR. Navázáním ligandu na PRR/TLR receptory dochází k aktivaci nukleárního faktoru kappa B, jeho stimulaci provází stimulace transkripce genů pro cytokiny, matrixmetalloproteinázy a růstové faktory. Některé z cytokinů mají prozánětlivé účinky, např. interleukin – 1beta, 6, 8, TNF – alfa, některé protizánětlivé, např. interleukin – 10, u některých se jejich úloha mění dynamicky v průběhu zánětu, např. TGF – transforming growth factor. Prozánětlivé cytokiny ( především interleukin -1beta, interleukin-6 a – 8 a a TNF- alfa) mají zásadní význam v etiopatogenezi předčasného porodu [ 95 ]. Stimulují syntézu matrixmetalloproteináz (MMP) ve sliznici děložní a v plodových obalech. Prozánětlivé cytokiny se také podílejí na stimulaci syntézy prostaglandinů [ 96 ]. PRR jsou exprimovány nejen imunokompetentními buňkami, především makrofágy a dendritickými buňkami, ale i deciduou a amniocyty. Kromě výše uvedených PRR jsou známy i neméně důležité solubilní formy proteinů, které někteří autoři označují solubilní PRR. Mezi významné zástupce této skupiny patří mannosu-bindig lectin (MBL), jak bude pojednáno dále [ 97 ]. Choriodeciduální prostor, vymezený na jedné straně děložní sliznicí a na druhé straně strukturami odvozenými do trofoblastu ( amnion, chorion ), představuje pravděpodobně nejvýznamnější „spouštěcí zónu“ předčasného porodu [ 98 ]. Výše uvedená kaskáda, tj. navázání DAMPs/PAMPs na PRR představuje, podle dosavadních znalostí, molekulární podklad etiopatogeneze předčasného porodu. O roli alarminů (DAMPs) i PRR v patogenezi spontánní prematurity pojednává řada prací [ 99, 100, 101, 102 ]. Molekulární mechanismy spuštění zánětlivého procesu porodu však zatím nejsou podrobněji dále popsány. Zůstává zde řada nezodpovězených otázek a jednou z těch zásadních je, jakou roli sehrává, často přirozené, osídlení porodních cest ( ale i jiných kompartmentů lidského těla ) mikroorganismy ( mikrobiom ) a jakou konkrétní úlohu má v tom procesu imunitní systém. Lze očekávat, že klíčové odpovědi se budou skrývat v popisu konkrétních interakcí mezi oběma těmito faktory. Podrobněji bude o úloze mikrobiomu a imunity bude pojednáno v dalším textu.

#### 4.5.2 Zapojení zánětu na úrovni myometria

Děložní kontraktilita se v průběhu těhotenství přirozeně mění. Celé těhotenství probíhá určitá míra děložní činnosti, kterou někteří autoři nazývají „kontrakturami“ – epizody děložní činnosti, které trvají řádově minuty a nenesou s sebou významné změny intrauterinního tlaku [103, 104]. Tyto jsou postupně nahrazovány kontrakcemi tj. takovou děložní činností, která postupně vede k zvýšení intrauterinního tlaku a nakonec během porodu i k vypuzování plodu. Pro pochopení patofyziologických procesů je nejprve nutné připomenout základní rysy fyziologie děložní činnosti. Její podstatou je kontrakce, která vzniká v důsledku interakce proteinů myocytů (svalových buněk) – aktinu a myosinu. Synchronizace myocytů v rámci celé dělohy je zajištěna pomocí mezibuněčných spojení – gap a tight junctions. Homeostáza vápenatých iontů ( $Ca^{2+}$ ) je naprosto klíčová pro správnou funkci myocytů.  $Ca^{2+}$  se váže na protein kalmodulin, který pak aktivuje myosinkinázu; ta fosforyluje lehký řetězec myosinu, čímž je umožněna vazba mezi aktinem a myosinem. Intracelulární hladiny vápníku jsou regulovány dvěma mechanismy: influxem buněčnou membránou a uvolňováním ze zásobních míst myocytů (sarkoplazmatické retikulum). Tok vápenatých iontů je zajištěn dvěma způsoby. Jednak napětově nezávislými kanály, stimulací receptorů agonisty či blokádou antagonisty, jednak napětově závislými kanály, tj. depolarizací buněčné membrány [105]. Buněčné membrány myocytů (sarkolema) obsahují mnoho iontových receptorů. Ty jsou na membránách vytvářeny působením ovariálních a placentárních steroidů. Progesteron ovlivňuje tvorbu receptorů 2. typu = beta-adrenergní receptory, působením estradiolu se tvoří receptory 1. typu = alfa-adrenergní, muskarinergní, cholinergní, oxytocinové, prostaglandinové. Stimulací agonisty receptorů 1. typu je umožněn vstup vápenatých iontů do buněk. Naopak, jejich návrat proti koncentračnímu spádu do původních stanovišť vyžaduje energii a je zajištěn pomocí ATP pumpy a je ovlivněn stimulací agonisty receptorů 2. typu – beta-mimetiky a magnesiem. Myosinkináza je regulována pomocí cAMP (cyklického adenosinmonofosfátu), inhibující její funkci. Hladiny cAMP jsou zvyšovány stimulací betaadrenerních receptorů 1. typu, tedy např. beta-mimetiky. Homeostáza vápenatých iontů a děložní činnost je tedy mj. závislá na množství příslušných receptorů a koncentraci jejich agonistů a antagonistů [106]. Za fyziologických podmínek nastává změna kontraktilního vzorce dělohy v době termínového porodu, za patologických podmínek jsou uvedené pochody popsány při infekci a při intraabdominální chirurgii v těhotenství [107, 108]. O zapojení zánětu do předčasného i termínového porodu na úrovni myometria pojednává např. práce Chan et al., který zjistil silnou expresi genů pro interleukin-8 a superoxididismutázu podílejících se kontrole a průběhu zánětu [109].



Prozánětlivé cytokiny, jako je např. interleukin-8, se podílejí na stimulaci syntézy prostaglandinů [ 96 ] . Keski-Nisula ve své práci studoval průběžně vzorky myometria u žen, které absolvovaly císařský řez v různých fázích těhotenství. V případě nekomplikovaného těhotenství ukončeného plánovaným císařským řezem pravidelně nalézal minimální infiltraci myometria leukocyty ve srovnání s vzorky myometria z císařských řezů prováděných akutně, např. po předčasném odtoku plodové vody, zejména, jednalo-li se o předčasný porod. V těchto situacích popisuje často masivní infiltraci myometria leukocyty [ 110 ]. Velmi podobně, Singh ve své studii odebíral vzorky myometria u žen během císařského řezu a porovnával přitom dvě podskupiny žen – ty, které prodělaly akutní císařský řez po předchozím spontánním vedení porodu s těmi, co podstoupily plánovaný císařský řez. Při použití průtokové cytometrie myometriální tkáně zjistil, že během akutní operace obsahovaly vzorky myometria významně vyšší počet neutrofilů proti vzorkům od plánovaného císařského řezu [ 111 ].

#### *4.5.3. Zapojení zánětu na úrovni děložního hrdla*

Děložní hrdlo představuje uzávěrovou část dělohy, která plní roli pomyslné bariéry mezi zevním prostředím a vyvíjejícím se těhotenstvím . Od děložního těla se liší nižším zastoupením myofibril a naopak vyšším obsahem kolagenních vláken a mezibuněčné hmoty. Během těhotenství, porodu a po porodu probíhá rozsáhlá přestavba pojivové tkáně, která nemá v lidském organismu žádné srovnání. Tuto přestavbu děložního hrdla nazýváme remodelací. Remodelace děložního hrdla zahrnuje jeho zkracování, dilataci a měknutí. Probíhá stejným mechanismem u fyziologického průběhu těhotenství i předčasného porodu, liší se však způsobem aktivace i rychlostí změn. Výsledky studií používajících sériová měření délky děložního hrdla naznačují, že remodelace hrdla předchází vlastnímu porodu řádově týdny [ 112, 113 ]. Za patologických podmínek , nejčastěji při infekci v porodních cestách v různých fázích těhotenství, uvedené procesy nastupují časněji a se vši pravděpodobností probíhají i rychleji. Tohoto fenoménu jsme v klinické praxi schopni využívat a identifikovat předčasnou remodelaci děložního hrdla jako jeho zkrácení při hodnocení délky děložního hrdla ultrazvukovým měřením vaginální sondou. Na druhou stranu je nutné říci, že ani absence předčasné remodelace děložního hrdla nevyklučuje subklinicky přítomnou infekci nebo případné změny, které by mohly vyústit v předčasný porod. Molekulární a buněčný základ remodelace hrdla spočívá v regulaci složení mezibuněčné hmoty - extracelulární matrix. Na její degradaci se podílejí především matrixmetalloproteinázy. Zrácí pochody děložního hrdla jsou charakterizovány snížením koncentrací kolagenu a rozptýlením kolagenních fibril. Druhé

jmenované bývá přisuzováno zvyšování produkce glykosaminoglykanů fibroblasty, zejména decorinu a hyaluronové kyseliny. Glykosaminoglykany podporují v děložním hrdle navýšení obsahu vody. Dalším mechanismem, který se podílí na remodelaci děložního hrdla, jsou změny permeability cervikálního epitelu [ 114 ]. I remodelace děložního představuje zánětlivý fenomén, tento proces je i za fyziologických podmínek spojen s přílivem makrofágů a neutrofilů, které zahajují degradaci extracelulární matrix. Za patologických podmínek, především infekci, dochází k akceleraci uvedeného procesu [ 115, 116 ]. Gonzales na myším modelu testoval úlohu komplementu v remodelaci děložního hrdla. K pokusu využil dva modely spuštění předčasného porodu – pomocí aplikace lipopolysacharidu a použitím antagonisty progesteronu – mifepristonu. V obou případech zaznamenal vyšší depozita C3 složky komplementu v děložním hrdle a vyšší koncentrace C3 a C5 složek komplementu a MMP-9 ( matrix metalloproteináza-9 ) v séru proti kontrolní skupině bez iniciace předčasného porodu. Makrofágy uvolňují MMP-9 jako odpověď na C5a složku komplementu [ 117 ]. Chemokiny, jako jsou např. interleukin – 8 a S100A9, přitahují různé typy buněk, které se účastní zánětlivého procesu, tyto postupně uvolňují různé prozánětlivé cytokiny, jako jsou např. TNF-alfa a interleukin-1beta. Uvedené cytokiny dále stimulují syntézu prostaglandinů, které samy o sobě podporují zrační pochody v děložním hrdle [ 118 ]. TNF-alfa i interleukin-1beta mohou dále aktivovat signální dráhu důležitého regulátoru transkripce - nukleárního faktoru kappa B (NF- kB ) [ 119 ]. NF- kB může blokovat aktivity zprostředkované progesteronovým receptorem. Vzájemné interakce mezi NF- kB a progesteronovým receptorem jsou považovány za funkční bázi „protizánětlivého“ působení progesteronu v reprodukčních orgánech [ 120 ].

#### *4.5.4 Zapojení zánětu na úrovni deciduy a plodových obalů*

Lidské plodové obaly se skládají z jedné vnitřní epiteliální vrstvy amnia ( komunikující s amniální dutinou obsahující plodovou vodu) a vícevrstevné chorionové ( trofoblastové ) vrstvy. Tato vrstva je připojena k decidue pomocí extracelulární matrix, bohaté na různé typy kolagenů zajišťující pevnost v tahu a strukturní integritu membrán [ 121 ] . V rámci přípravy k porodu probíhají v oblasti deciduy a plodových obalů biochemické procesy, jejichž cílem je umožnit oddělení a následně po porodu plodu i vypuzení plodových obalů – hovoříme také o tzv. aktivaci plodových obalů a deciduy [ 122 ]. Děje se tak především degradací mezibuněčné hmoty v oblasti deciduy a plodových obalů. Mezi nejvýznamnější adhezivní proteiny, zajišťující kompaktnost extracelulární matrix, patří fibronektiny. Fetální fibronektinu ( fFN )

patří mezi zástupce této skupiny extracelulárních proteinů . Degradaci extracelulární matrix různými proteolytickými enzymy v choriodeciduálnímu prostoru - v souvislosti s přípravou k porodu - následuje uvolňování fFN do cervikovaginálního sekretu. Zde pak může být prokazován bezprostředně před termínovým i předčasným porodem [ 123,124 ]. Nejvýznamnější skupinu proteolytických enzymů, které se podílejí na degradaci kolagenu, elastinu, fibronektinu a další mezibuněčné hmoty , představují , podobně jako u remodelace děložního hrdla, matrixmetalloproteinázy – MMP. Tvorbu MMP stimuluji během předčasného i termínového porodu především prozánětlivé cytokiny a prostaglandiny. Kromě proteolytické degradace deciduální a amniochoriální extracelulární matrix existují důkazy o tom, že zejména předčasný odtok plodové vody – PPRM - je též spojen a apoptózou buněk amnia a také lokální zánětlivou reakcí [ 125 ]. Nový pohled na problematiku přípravy plodových obalů a deciduy k porodu přináší především práce Menona a Gomez-Lopez a kol. Ve svých pracech diskutují programované stárnutí plodových obalů – tzv. senescenci [ 126 ]. Senescentní fetální obaly uvolňují zánětlivé signály, které jsou v exosomech šířeny do dalších mateřských tkání – děložního hrdla a myometria a mohou tak spustit porod [ 127, 128, 129 ]. Další práce uznávané skupiny odborníků kolem Menona porovnávala vzorky plodových obalů u termínového císařského řezu bez předchozích pravidelných děložních kontrakcí a vzorky plodových obalů z termínových spontánně probíhajících porodů. Morfologické změny buněk i jejich organel ( zvětšení ) spojené se stárnutím byly posuzovány pomocí značení b-galactosidasou elektronovým mikroskopem. Plodové obaly získané od spontánního porodu vykazovaly vyšší výskyt změny spojených se stárnutím proti vzorkům z plánovaných císařských řezů. Stejně tak byly ve vzorcích z plodové vody od spontánního porodu zjištěny vyšší koncentrace prozánětlivých a senescencí spojených ( SA – senescence associated ) ukazatelů (např. interleukin-6,-8) a na druhou stranu, snížené koncentrace ukazatelů chránící před buněčnou smrtí ( např. solubilní Fas-ligand a intercellular adhesion molecule-1) [ 122 ]. Otázkou nadále zůstává, jaký je regulační/spouštěcí mechanismus senescence, na to zatím nemáme žádnou uspokojivou odpověď.

#### *4.5.5 Intraamniální zánět, fetální zánětlivá odpověď*

Řada prací dokládá, že zánětlivé změny nenalzáme jen myometriu, děložním, hrdle a plodových obalech, ale také v plodové vodě. Intraamniální zánět je definován průkazem zánětlivých změn v plodové vodě . Je však potřeba odlišit zánětlivou reakci bez průkazu mikroorganismů v plodové vodě stávajícími technikami ( intraamniální sterilní zánět) a

zánětlivou reakci spojenou s jejich přítomností – tzv. mikrobiální invaze do dutiny děložní (MIAC – microbial invasion of amniotic cavity) [ 130, 131 ]. Jednou z metod, která je k detekci mikroorganismů (bakterií, virů, hub) využívána, je molekulárně biologická technika detekce „stop“ mikroorganismů - PCR-ESI-MS ( real-time PCR + electrospray ionization mass spectrometry ) [ 132 ]. Detekce takových zánětlivých změn/MIAC se prenatalně provádí se souhlasem těhotných pomocí odběru plodové vody – amniocentézou. Intraamniální zánět je charakterizován elevací různých ukazatelů, z nichž za nejrelevantnější jsou považovány především interleukin – 6 a matrixmetalloproteináza – 8 [ 133, 134, 135 ]. Další možností, jak odhalit intraamniální zánětlivý proces je, ale jen v případě pacientek s předčasným odtokem plodové vody - PROM, možnost odebrat plodovou vodu vatovou štětičkou stěrem z pochvy a stanovit koncentraci výše uvedených cytokinů v ní. Tuto vyšetřovací cestu lze využít především v situacích, kdy chceme vyloučit případný intraamniální zánět neinvazivní cestou. Hodnocení přítomnosti/koncentrace např. interleukinu-6 v plodové vodě vykazuje vysokou negativní predikční hodnotu a umožňuje tak - vyloučením intraamniálního zánětu - prodloužit těhotenství v zájmu plodu do vyšších týdnů těhotenství [ 136 ]. V poslední době také přibyly nové poznatky o tom, jak souvisí přítomnost ( přirozené ) vaginální mikrobioty s intraamniálním zánětem. Práce Cobo a kol. studovala kohortu žen s předčasným porodem před 34.týdnem těhotenství. Zjistila, že redukce osídlení pochvy *Lactobacillus spp.* je významně spojena s kratším trváním těhotenství a je současně spojena i s výskytem intraamniálního zánětu ( ve studii definovaným elevací interleukinu – 6 v plodové vodě) [ 137 ]. Jak v případě intraamniálního (sterilního) zánětu, tak i MIAC, může nebo nemusí být po porodu prokázána histologická zánětlivá odezva v placentě, plodových obalech či pupečníku – tj. chorioamnionitis a/nebo funisitis (zánětlivé změny v pupečníku) . Bezpochyby je však přítomnost zánětlivých změn/MIAC v plodové vodě a plodových obalech spojena s vyšším rizikem předčasného porodu a neonatálních komplikací [ 95, 138, 139 ]. Prenatalně lze prokázat zánětlivou odpověď také u plodu, byť invazivní cestou. Poprvé ji popsal Gomez a posléze byl zaveden termín, který se v této souvislosti používá dosud – fetální zánětlivá odpověď a s ní spolejný syndrom – FIRS ( fetal inflammatory response syndrome ). U žen s předčasným porodem stanovoval hladiny interleukinu-6 v pupečnickové krvi kordocentézou a zjistil, že plody s hladinami tohoto cytokinu nad 11 pg/ml mají vyšší pravděpodobnost závažné neonatální morbidity než plody s hladinami pod uvedenou hranicí [ 140 ]. FIRS je považován za analogii SIRS ( Systemic inflammatory response syndrome = systémová zánětlivá odpověď ) a je charakterizován významně vyšší morbiditou novorozenců, jako jsou RDS ( respiratory distress syndrome – syndrom respirační tísně), IVH ( intraventrikulární

hemorrhagie ), neonatální sepse, pneumonie, BPD ( bronchopulmonární dysplasie) , PVL ( periventriculární leukomalacie), NEC ( nekrotizující enterokolitis) a myokardiální dysfunkce [ 141 ]. Problematika intraamniálního zánětu/MIAC/FIRS je velmi složitá a stále neexistují přesné postupy, jak zapojit diagnostické možnosti zahrnující provádění odběrů plodové vody či cervikovaginální tekutiny do klinické praxe a bude v této oblasti jistě potřeba dalšího výzkumu [ 142 ].

#### *4.5.6 Etiologické spouštěcí mechanismy předčasného porodu*

Jak již bylo uvedeno, profesor Romero byl prvním , který v souvislosti s předčasným porodem použil spojení „syndrom předčasného porodu“. Syndromem rozumíme soubor příznaků, které charakterizují určitý stav nebo nemoc a přitom příčiny vedoucí k uvedené situaci mohou být různé. Spolu s preeklampsií předčasný porod zařadil mezi „velké porodnické syndromy“. Oba charakterizoval společnými rysy:

- Více etiologických příčin
- Dlouhá subklinická fáze
- Častá účast plodu ( v případě preeklampsie fetální růstová restrikce, v případě předčasného porodu fetální zánětlivá odpověď)
- V patogenezi hraje zásadní roli interakce genetické dispozice a prostředí [ 2 ].

V následujícím textu uvedu výčet diskutovaných příčin předčasného porodu

#### *Nadměrné rozpětí dělohy*

Přítomnost vrozených vad dělohy, vícečetného těhotenství a polyhydramnia je prokazatelně spojena s vyšší pravděpodobností předčasného porodu [ 2 ]. Experimentální studie na zvířatech prokazují, že takové nadměrné rozpětí dělohy - mechanický stres – je spojeno s aktivací zánětlivého procesu, charakterizovaném vzestupem produkce prozánětlivých cytokinů, prostaglandinů a následně i rozvojem předčasného porodu [ 143 ].

#### *Alergie*

Děloha je bohatým zdrojem mastocytů, které patří mezi efektorové buňky alergické reakce. Degranulace mastocytů vede k uvolnění histaminu , který stimuluje syntézu prostaglandinů [ 144 ]. Mateřské astma alergického původu je prokazatelně spojeno s prokazatelně vyšším rizikem předčasného porodu [ 145, 146 ].

### *Uteroplacentární ischémie, deciduální hemorrhagie, vaskulární změny*

V průběhu těhotenství nastává v koagulačním systému matky celá řada změn. Systémové nastavení mateřské srážlivosti je „prokoagulační“ – k prevenci nadměrných krevních ztrát během porodu. V oblasti intervillózního prostoru placenty je prostředí „hypokoagulační“ s cílem umožnit plynulé laminární proudění extravaskulární mateřské krve k výměně živin a plynů a naopak, v decidui opět prostředí „hyperkoagulační“, k zabránění nadměrné peripartální krevní ztráty. Na hemostáze se podílejí tři komponenty a to cévní stěna (především endotel), trombocyty, erytrocyty a monocyty a plasmatické proteiny zahrnující koagulační a fibrinolytické faktory a jejich inhibitory. Za fyziologických podmínek je těhotenství provázeno elevací hladin koagulačních faktorů a naopak, dochází k poklesu hladin antikoagulačních faktorů a snížení úrovně fibrinolýzy [ 147 ]. Jak je již uvedeno výše, na úrovni placenty – trofoblastu a deciduy – musí být zajištěn takový rovnovážný stav, který umožní plynulé zásobení plodu krví a stejně tak podmínky zabraňující krvácení. Je tomu tak díky různým změnám, které nastávají v těchto tkáních po implantaci blastocysty. Na zajištění prokoagulačního prostředí v placentě se podílí především tkáňový faktor ( TF ). TF ( také nazývaný faktor III ) je glykoprotein přítomný v subendoteliální tkáni, trombocytech, a leukocytech. TF umožňuje buňkám zahájit koagulační kaskádu tím, že funguje jako receptor s vysokou afinitou pro koagulační faktor VII. Vytvořením komplexu TF a faktoru VII a za přítomnosti vápenatých iontů na buněčné membráně vzniká aktivní F VIIa . Tvorbou aktivního faktoru VII ( VIIa ) může pokračovat koagulační kaskáda směřující ( přes vytvoření aktivního faktoru X ) k přeměně protrombinu na trombin a tento pak umožňuje přeměnu fibrinogenu na fibrin. TF je exprimován na buňkách, které obvykle nejsou v kontaktu s cirkulující krví, jako jsou subendoteliální buňky (např. buňky hladké svaloviny) a buňky obklopující krevní cévy. Nicméně TF mohou exprimovat i endoteliální buňky v případě působení prozánětlivého cytokinu TNF-alfa [ 148 ]. V těhotenství exprimují TF perivaskulárně uložené deciduální endometriální stromální buňky s cílem zabránit postimplantační hemorrhagii při invazi trofoblastu. Na regulaci jeho exprese se podílejí jak estrogény, tak progesteron [ 149]. V posledních letech přibyla řada důkazů o tom, že proliferující trofoblast získává podobné vlastnosti jako cévní epitel. Exprimuje totiž celou řadu inhibitorů koagulace jako např. inhibitor dráhy tkáňového faktoru ( tissue factor pathway inhibitor 2 – TFPI, také známý jako placentární protein 5 – PP-5 ) , heparinový kofaktor II, dermatan sulfát, trombomodulin, ale opět také prokoagulační TF [ 150 ]. Logicky se nabízí myšlenka, že jakékoliv narušení rovnovážného stavu ( například zánětlivým procesem ) pro-, antikoagulačních faktorů a fibrinolytického

systemu a inhibitorů, ať už systémově v mateřské cirkulaci či na úrovni vyvíjející se placenty, může mít nepříznivé dopady na prosperitu těhotenství. O vztahu poruch srážlivosti, konkrétně vrozených a získaných trombofilií, a předčasného porodu publikoval práci jako jeden z prvních Arias [ 151 ]. Vrozené poruchy srážlivosti, mezi něž patří např. Leidenská mutace, mutace f. II, deficit proteinů C,S a antitrombinu (AT III), jsou neustále studovány v souvislosti s různými nepříznivými výsledky těhotenství, včetně předčasného porodu. Zatímco u žen s preeklampsií a růstovou restrikcí plodu nalzáme proti nekomplikovaným těhotenstvím přítomnost vrozených trombofilií častěji, u předčasného porodu nejsou výsledky tak přesvědčivé [ 152 ]. Poslední metaanalýza v této oblasti nicméně poukazuje na mírně vyšší riziko předčasného porodu u žen s Leidenskou mutací [ 153 ]. Dle dostupných poznatků však není pochyb o tom, že získané trombofilie, mezi něž patří především lupus erythematoses a antifosfolipidový syndrom, s sebou vyšší riziko předčasného porodu nesou [ 154, 155 ]. Mechanismus aktivace srážlivosti u těchto trombofilií je však pravděpodobně odlišný od žen s vrozenými poruchami srážlivosti. Předpokládáme nadměrnou generaci trombinu jako důsledek endotelové dysfunkce, a to jak systémově, tak lokálně na úrovni placenty [ 156, 157 ]. Výkyvem rovnovážného stavu ( endotelovou dysfunkcí ) mohou v placentární mikrocirkulaci vznikat četné mikrotromby, rozvíjí se ischemie a oxidativní stres nebo naopak, deciduální hemorrhagie, která může vyústit až v předčasné odloučení ( abrupci ) placenty. Nadměrná generace trombinu však může být také důsledkem vyšší tvorby tkáňového faktoru jako odpověď na přítomnost infekce a působení prozánětlivých cytokinů [ 158 ]. Oxidativní stres, který může vzniknout v rámci reperfučního poškození kyslíkem po proběhlé ischemii/hypoxii, může vést ke generaci alarminů ( DAMPs) a dále aktivaci PRR a tím může dojít k další podpoře mechanismů vedoucím k předčasnému porodu, jak je již uvedeno výše. V souhrnu můžeme říci, že etiopatogeneze uteroplacentární ischemie a deciduální hemorrhagie může být dána jak trombofilii, tak zánětlivým procesem, který iniciuje jiný příčinný faktor ( např. infekce ), případně kombinací obou [ 159, 160, 161 ]. Propojení narušení rovnovážného stavu srážlivosti a zánětlivých změn dokládá vyšetření placent v situacích, kdy došlo k jejich abrupci. U pacientek s abrupcí placenty jsou histologicky prokazatelné zánětlivé změny v placentě i plodových obalech [ 162 ]. Další histopatologickou změnou, kterou lze pozorovat u předčasného porodu, představuje abnormální formace uteroplacentární cirkulace – tedy vaskulární změny. Invaze trofoblastu do deciduy a reverzibilní remodelace spirálních arterií (větvi aa.uterinae) představují klíčový předpoklad normálního formování placenty. Remodelace spirálních arterií představuje proces, kdy spirální arterie přechodně ztrácí svoji muskulární vrstvu a schopnost vasokonstrikce [ 163 ]. Selhání fyziologické

transformace/remodelace spirálních arterií bylo poprvé popsáno u preeklampsie [ 164 ]. U žen s předčasným porodem je relativně často v histologických vyšetřeních placent taktéž popisováno selhání fyziologické remodelace spirálních arterií proti ženám s donošeným těhotenstvím. Přesné souvislosti ale zatím nejsou známy [ 165, 166 ]. U obou těchto velkých porodnických syndromů, byť u předčasného porodu v menší míře, jsou také popisovány ischemické změny spojené s abnormálním formováním placentární mikrocirkulace [ 167 ].

### *Úloha progesteronu*

Progesteron patří mezi steroidní hormony a hraje naprosto nezbytnou úlohu po celou dobu těhotenství. Nejprve ho produkuje žluté tělísko, po 12.týdnu těhotenství je tvořen placentou. O jeho nesporném významu v podpoře prosperity těhotenství v I.trimestru svědčí různé práce, které studovaly důsledky chirurgického odstranění žlutého tělíska či podání antagonistů progesteronových receptorů ( mifepriston – RU 486 ) v I.trimestru. V obou případech docházelo k potratu [ 168, 169,170 ]. Obecně se předpokládá, že je od II.trimestru dále zodpovědný za udržení klidového napětí myometria různými mechanismy. Ovlivňuje např. expresi kalciových a napětově řízených iontových kanálů, které tlumí elektrickou aktivitu myocytu, downregulují receptory zapojené do kontrakce myometria a proteiny zapojené do vazby aktinu a myosinu [ 171 ]. Více údajů již máme o jeho roli v přípravě děložní činnosti směřující k porodu. Původně předpokládané snížení jeho hladin předcházející porodu však u lidí nebylo prokázáno , jeho hladiny jsou neměnné až do porodu placenty [ 172 ]. Pozornost se tak obrátila k jeho receptorům ( PR ). Výzkum v posledních dvaceti letech ukázal, že progesteron působí nejen přes svoje intracelulárně uložené PR ( nukleární – nPR) zajišťující „genomické funkce“, ale i membránové receptory (mPR), které jsou schopny rychle modulovat intracelulárních signální kaskády [ 173, 174 ]. Intracelulární nukleární PR ( nPR ) patří mezi superrodinu ligandem aktivovaných regulátorů transkripce a jsou přítomny v lidských tkání nejméně ve dvou izoformách – nPR-A a nPR-B. Strukturálně se liší minimálně, mají však zcela rozdílné a vzájemně si oponující funkce [ 175 ]. Progesteron působením na nPR-B inhibuje expresi genů kódujících zánětlivé procesy a tím se může podílet za stabilizaci a udržení těhotenství. Jak je již opakovaně zmíněno v předcházejícím textu, lze v pozadí předčasného i termínového porodu nalézt důkazy o zapojení zánětlivého procesu. nPR-A je inhibitor exprese nPR-B. Počátek porodu, ať už termínového či předčasného, je spojen s významně vyšší expresí genů pro nPR-A proti expresi genů pro nPR-B, což ve výsledku vede k zástavě působení progesteronu [ 176,177 ] . Jak ukazuje práce Brubaker a kol., lze pozorovat i „obrácený“ vliv . Ve své práci zjistil, že působením zánětlivých stimulů ( různých prozánětlivých cytokinů )



dochází k podpoře exprese nPR-A, která inhibuje protizánětlivou aktivitu nPR-B. Předpokládá tak, že uvedené může být jedním z mechanismů podílejících se na spuštění předčasného porodu [ 178 ]. O úloze mPR pro zdárný průběh těhotenství donedávna nebylo známo příliš mnoho informací . Nedávno však byly nalezeny např. na T regulačních lymfocytech, jejichž „downregulace“ předchází porodu [ 179, 180, 181 ]. O problematice T regulačních lymfocytů v etiopatogenezi předčasného porodu dále pojednám v kapitole u úloze imunity. Poměrně nově studovanou oblast představuje studium imunomodulačních vlastností progesteronu v průběhu těhotenství. Imunologické účinky progesteronu jsou zprostředkovány proteinem, který se nazývá progesteronem indukovaný blokující faktor (PIBF – progesterone induced blocking factor ) [ 182, 183 ]. PIBF je progesteronem indukovaná molekula exprimovaná trofoblastem, lymfocyty a některými nádory [ 184 ]. V přítomnosti progesteronu lymfocyty syntetizovaný PIBF inhibuje syntézu arachidonové kyseliny a tímto způsobem může regulovat kontraktilitu dělohy, snižuje aktivitu NK buněk ( natural killer cells – NK ) a modifikuje i hladiny pro- a prozánětlivých cytokinů ve smyslu převažující Th-2 supresorové imunitní odpovědi podporující imunotoleranci těhotenství [ 185,186,187 ]. Hudič ve své práci porovnávala krevní vzorky pacientek s předčasným porodem a kontrolní vzorky žen v odpovídajících týdnech těhotenství a v první skupině shledala významně snížené koncentrace PIBF proti té kontrolní. Předpokládá tak, že snížení hladin PIBF může být dalším z mechanismů, které stojí v pozadí procesů vedoucích k porodu [ 188 ]. Přestože je role progesteronu pro prosperitu a udržení těhotenství nezpochybnitelná, současné údaje zatím neumožňují vysvětlit, jaký je vztah mezi působením progesteronu a jeho receptory a aktivací porodu. Nicméně stávající data naznačují, že abnormální funkce progesteronových receptorů ( abnormální exprese nPR, mPR) nepředstavuje vlastní příčinu předčasného porodu, ale je spíše průvodním projevem „řetězu událostí“ v zánětlivém procesu, který je aktivován již dříve [ 189 ]. Imunomodulační vlastnosti progesteronu ve vztahu k těhotenství jsou nadále intenzivně studovány [ 190 ].

### *Role mateřské imunity*

V posledních letech se stále více prací věnuje úloze imunitního systému v pozadí předčasného porodu. Přibližně od 50.let minulého století víme, že za fyziologických podmínek těhotenství představuje „cizí tkáň“ tolerovaná matkou, kdy plod ( trofoblast ) prezentuje paternální antigeny a exponuje je tak mateřskému imunitnímu systému. Prof. Peter Brian Medawar je dodnes považován za jednoho ze zakladatelů oboru reprodukční imunologie. Tento obor pravděpodobně nejlépe odpovídá na otázky spojené s patologickými výstupy v těhotenství, jako jsou mj. předčasný porod a preeklampsie. V následujícím textu se pokusím nastínit

základní principy fungování imunitního systému v těhotenství z pohledu porodníka. Zároveň uvedu nejvýznamnější poznatky o změnách imunitního systému, které byly v souvislosti s předčasným porodem dosud zaznamenány. Funkce imunitního systému se v průběhu těhotenství stran obranyschopnosti proti patogenům nijak nemění. Musí však proběhnout takové změny, které umožní přirozený a nekomplikovaný vývoj těhotenství. Práce prof. Medawara se zabývala objasněním mechanismů zodpovědných za paradoxní přežití plodu jako intrauterinního allogenního štěpu u imunologicky kompetentního geneticky cizího hostitele, tj. matky. V r. 1963 Sir Peter Brian Medawar obdržel Nobelovu cenu za Fyziologii a medicínu za objev získané imunologické tolerance [ 191 ]. Od té doby byly studovány různé mechanismy, díky kterým by plod mohl „uniknout“ mateřskému imunitnímu dohledu a byly postupně navrhovány různé hypotézy. Mezi tato tato – již dřívější - paradigmatata patřila především představa, že v průběhu těhotenství dochází k potlačení mateřské imunitní odpovědi vůči „cizímu“ plodu převahou Th-2 ( T helper lymfocyty ) lymfocytární odpovědi [ 192 ]. Základní vlastností imunitního systému je chránit hostitele před patogeny. V zajištění normální prosperity těhotenství se uplatňují jak složky vrozené ( neadaptivní ) imunity zahrnující fagocyty, makrofágy, NK buňky ( natural killer cells – NK ) a komplement, tak i zástupci získané ( adaptivní ) imunity – především T lymfocyty [ 193 ]. T lymfocyty představují nesourodou skupinu buněk bílé krevní řady, které se vyvíjejí z prekurzorů v thymu. Do něj putují z krve tkání ( především z kostní dřeně ) během prenatálního vývoje. V thymu probíhá selekce nezralých T lymfocytů. Buňky retikulárního epitelu thymu předkládají nezralým lymfocytům antigeny. Jejich přežití závisí na jejich schopnosti rozeznávat HLA antigeny ( viz dále ) vlastního těla – tzv „selfantigeny“ . Nereagující nebo příliš agresivní buňky jsou zničeny ( asi 95 %). Ostatní vstupují do krve. Krví jsou dopraveny do sekundárních lymfatických orgánů ( a v případě těhotenství navíc do dělohy ), kde se setkávají se svými specifickými antigeny. Tím zde může dojít k jejich aktivaci. Povrchové znaky – CD ( cluster designation, cluster of differentiation) – představují transmembránové proteiny/glykoproteiny, které exprimují nejen leukocyty, ale i endotelie a další buňky. Specifita T lymfocytů je dána vývojem jejich TcR ( T celulárních receptorů). Ty ovšem samy k aktivaci ( přenosu signálu ) lymfocytu nestačí, nezbytný je membránový komplex TcR a povrchového znaku CD3, který mají na povrchu všechny lymfocyty. Podle funkce jednotlivých T lymfocytů a podle CD znaků, které se vyskytují na jejich povrchu , rozlišujeme jednotlivé subpopulace lymfoocytů – T helper, T cytotoxické, T regulační a natural killer cells . T helper lymfocyty ( Th, helper = pomocné) jsou charakterizovány expresí povrchového znaku CD4 a dělíme je do dvou podskupin – Th-1 podporující buněčnou a cytotoxickou část imunity ( tj. cytotoxické lymfocyty

a makrofágy) a Th-2 podporující B lymfocyty, které zajišťují tvorbu protilátek. Další důležitou populaci T lymfocytů, prezentující povrchový znak CD4 představují T regulační lymfocyty. Jsou zodpovědné za toleranci antigenů vlastního těla ( selfantigenů ) a paternálních antigenů. Jejich dalším povrchovým znakem je CD25. Naopak, většina T regulačních lymfocytů neexprimuje povrchový znak CD127, čehož se využívá při jejich detekci také. Pro detekci T regulačních lymfocytů je dále klíčová přítomnost intracelulárního antigenu FOXP3 ( forkhead box P3 ). Tento transkripční intracelulární faktor je považován za klíčový regulátor počtu T regulačních lymfocytů. Do současnosti byla identifikována řada subpopulací T regulačních lymfocytů podle toho, jaké exprimují povrchové a intracelulární antigeny. Autority se shodují na tom, že v krvi ( mj.u těhotných ) lze detekovat dvě základní populace [ 194 ]. Jednak tzv. „natural T regulatory cells“ ( přirozeně se vyskytující ) vyvíjející se v thymu a exprimující antigeny CD4+ Foxp3+ CD25+ . Druhá hlavní populace, tzv. indukované T regulatory cells exprimují stejné antigeny, ale na rozdíl od výše uvedených se vyvíjejí z CD4+ T lymfocytů mimo thymus. Obecně lze u T regulačních lymfocytů prokázat expresi ještě dalších povrchových i intracelulárních antigenů, u některých z nich ještě není funkce plně objasněna. Klíčovou regulační funkci má intracelulární antigen CTLA-4 ( cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4) – negativní regulátor funkce T regulačních lymfocytů. Další představuje PD-1 povrchový receptor ( Programmed cell death protein 1), jehož exprese je spojena s redukcí apoptózy T regulačních lymfocytů. V souhrnu lze říci, že jsou T regulační lymfocyty funkčně definovány svou schopností potlačovat aktivaci a proliferaci CD4+ a CD8+ efektorových T lymfocytů, ale také NK buněk, dendritických buněk a makrofágů. Hlavní funkcí Treg lymfocytů je udržování homeostázy v imunitním systému. Jejich tlumivé působení potlačuje zánětlivé reakce, zabraňuje poškození tkání . Hrají důležitou, ale zatím ne zcela probádanou, roli v patogenezi a v regulaci autoimunitních onemocnění, infekcí, nádorových onemocnění a při rejekci transplantovaných orgánů. Je znám též fakt, že T regulační lymfocyty brání odstranění rakovinných buněk, a tak mohou přispívat k rozvoji nádoru [ 195, 196, 197, 198, 199 ]. Neméně významnou funkci v organismu mají pro zajištění prosperity těhotenství. Zde je však jejich role poměrně málo prozkoumaná. Víme, že úspěšné těhotenství je spojeno se zvýšeným počtem T regulačních lymfocytů v decidui [ 200 ]. Jednu z klíčových prací v této oblasti publikoval Rowe et al, který na myším modelu zjistil, že těhotenství vyžaduje trvalou expanzi T regulačních lymfocytů, protože i jejich přechodné snížení spouští fetální specifickou efektorovou T-buněčnou aktivaci a ztrátu těhotenství [ 201 ]. Výzkum však v této oblasti komplikuje fakt, že je potřeba odlišit různé populace T regulačních lymfocytů v krvi a ty, které se vyskytují přímo v děloze. T regulační lymfocyty lze detekovat jak v periferní krvi,

tak je lze také prokázat v místě zcela stěžejním pro zajištění prosperity těhotenství – tj. v decidui. Předpokládáme, že decidua, tj. oblast materno-fetální rozhraní, je T regulačními lymfocyty osídlena z periferní krve. Podle recentních údajů lze zde prokázat celkem tři subpopulace T regulačních lymfocytů, lišící se expresí jednotlivých antigenů. Kromě výše uváděné CD4+CD25+CD127-FoxP3+ populace, popisuje Salvany-Celades další dvě, konkrétně T regulační lymfocyty exprimující navíc antigeny PD-1 a TIGIT ( T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains). Během těhotenství je hlavním úkolem T regulačních lymfocytů přítomných v decidui potlačovat mateřskou imunitní odpověď vůči fetálním antigenům [ 202 ]. Jejich studium je velmi důležité nejen stran pochopení mechanismu tolerance semiallogeního plodu, ale také z hlediska možného využití predikce předčasného porodu, preeklampsie a případně i abortu. Celá řada studií u lidí ukazuje, že jsou různé výše uvedené patologie těhotenství spojeny se snížením počtu a/nebo snížení supresní aktivity ( snížení syntézy protizánětlivých cytokinů) T regulačních lymfocytů. Příčiny však dosud nejsou známy [ 203, 204, 205, 206, 207, 208 ]. Na výzkumu role T regulačních lymfocytů pro prosperitu těhotenství se podílí i naše pracoviště, jak bude uvedeno v prezentaci vlastní vědecké aktivity. Cytotoxické T lymfocyty exprimují na povrchu znak CD8 a kontrolují stav buněk v organismu - ničí buňky napadené viry a jinými parazity a nádorové buňky. Další populací lymfocytů jsou přirození zabíječi – natural killer cells ( NK ). Tyto se řadí k přirozeným lymfoidním buňkám (z angl. innate lymphoid cells, ILCs) a exprimují povrchové znaky CD 16 a CD 56. Mezi hlavní efektorové funkce NK buněk se řadí cytotoxicita a poté sekrece cytokinů a to hlavně INF- $\gamma$ , který dále aktivuje makrofágy, T-buňky a dendritické buňky. NK buňky hrají roli v časně imunitní odpovědi proti virům, kdy jsou schopny rozpoznat a zabít napadené buňky, a dále také v protinádorové imunitě, kde za určitých okolností rozpoznávají transformované nádorové buňky [ 209, 210 ]. Prof.Gil Mor navrhl nová paradigmatata, předjímá aktivní mechanismus chránící plod před mateřskou imunitní odpovědí, kdy spolu trofoblast a mateřský imunitní systém spolupracují. Tato kooperace tak umožňuje úspěšnou prosperitu těhotenství. Systémová imunitní suprese v těhotenství by představovala vážné ohrožení celého druhu - plod musí být matkou tolerován bez oslabení systémové imunity matky . Zároveň předpokládá, že signály pocházející z placenty a plodu modulují chování mateřského imunitního systému v přítomnosti nebezpečných signálů ( DAMPs, PAMPs) [ 211 ]. Proti původnímu paradigmatu dnes již tedy víme, že se imunitní odpověď v průběhu těhotenství postupně mění. Reakcí na implantaci blastocysty je Th-1 ( T helper lymfocyty 1 ) prozánětlivá imunitní odpověď, kdy hovoříme o tzv. „open wound stage“ ( stádium otevřené rány ). Th- 1 lymfocyty secernují prozánětlivé cytokiny jako jsou interferon gamma ( INF- $\gamma$ ) a tumor necrosis factor alpha, TNF-

$\alpha$  a hlavními efektorovými buňkami jsou především makrofágy a cytotoxické T lymfocyty. Blastocysta musí „prolomit“ endometrium a následně probíhající invaze trofoblastu remodelovat cévy matky (spirální arterie – větve uterinních arterií) s cílem zajistit cévní zásobení budoucího plodu [ 212 ]. Přibližně v úvodu druhé trimestru nastává změna - hovoříme o tzv. „cytokine shift“, kdy se prozánětlivá Th-1 imunitní odpověď mění na protizánětlivou Th-2 supresorovou a za fyziologických podmínek je zajištěna „symbióza“, růst a prosperita plodu. Th-2 lymfocyty tvoří protizánětlivé cytokiny interleukin-4,-10,-13, které tlumí diferenciaci Th-1 buněk [ 213 ]. Ve třetím trimestru se opět mění povaha imunitních pochodů na Th-1 prozánětlivou s cílem pomalu připravit plod na „separaci“ od matky [ 90 ]. Již od úvodu fyziologického těhotenství je lidská decidua osídlena vysoký počtem imunokompetentních buněk, především makrofágy, NK buňkami a T regulačními lymfocyty. 70% deciduálních leukocytů představují NK buňky (osídlující dělohu = uterine natural killer cells – uNK), 20–25% jsou makrofágy a 1,7% dendritické buňky. Mezi zástupci adaptivního imunitního systému chybí B-lymfocyty, naopak, T lymfocyty představují 3 – 10% všech imunokompetentních buněk. Dendritické buňky patří, spolu s monocyty a makrofágy, mezi nejúčinnější antigen prezentující buňky a jsou spojovacím článkem mezi nespecifickou a specifickou imunitou a mají také schopnost fagocytózy. Během prvního trimestru, NK buňky, dendritické buňky a makrofágy infiltrují deciduu a hromadí se kolem proliferujícího trofoblastu. Jak je uvedeno v dalším textu, pro adekvátní formování uteroplacentární cirkulace jsou nezbytné především uNK a děložní dendritické buňky (uterine dendritic cells – uDC) [ 214, 215, 216 ]. Neméně významnou roli v regulaci neadekvátní zánětlivé reakci při implantaci mají deciduální stromální buňky (decidual stromal cells – DSCs) [ 217 ]. Prof.Saito se posléze zasloužil o to, aby dosavadní poznatky o zapojení Th-1 a Th-2 subpopulací lymfocytů do vývoje těhotenství od implantace do porodu byly rozšířeny o další typy buněčných populací klíčových pro jeho přirozenou prosperitu. Stanovil tak tzv. Th1/Th2/Th17/Treg paradigma v těhotenství [ 204 ]. Předpokládá vzájemnou interakci mezi jednotlivými typy lymfocytů na úrovni deciduy, ovšem bez systémových změn jejich počtu v oběhu matky. Za další subpopulaci lymfocytů důležitou pro zánětlivou reakci (mj. provázející implantaci blastocysty) byla tedy označena Th-17 (T helper 17), charakterizovaná produkcí interleukinu-17. Tyto lymfocyty jsou zapojené do autoimunitních onemocnění a akutního odmítnutí transplantátu a hrají kritickou roli v navození zánětlivé odpovědi [ 218, 219 ]. Práce Pongcharoen ukazuje pojitko mezi produkcí interleukinu-17 Th-17 lymfocyty a tvorbou progesteronu. V experimentu na tkáňové kultuře prokázal zvýšená sekrece progesteronu vlivem působení interleukinu-17 [ 220 ]. Nezbytnou buněčnou populaci pro

navození tolerance plodu mateřskou imunitou představují již zmíněné T regulační lymfocyty. Jsou schopny inhibovat proliferaci Th-1 i T-cytotoxických lymfocytů včetně produkce jejich cytokinů, produkci imunoglobulinů B-lymfocyty, cytotoxickou aktivitu NK buněk a také maturaci dendritických buněk [ 221 ]. Zatím ale neznáme přesné mechanismy, jak balance jednotlivých subpopulací Th-1,Th-2,Th-17 a T regulačních lymfocytů ovlivňuje prosperitu těhotenství [ 204 ]. Podrobněji se možnému využití T regulačních lymfocytů k predikci předčasného porodu budu věnovat dále, kde uvedu i naše výzkumné poznatky. Další důležitou složkou, která se účastní imunitních pochodů v průběhu těhotenství představuje komplement. Komplement tvoří asi 30 sérových a membránových proteinů a je spolu s fagocyty součástí vrozené humorální imunitní odpovědi. Složky komplementu se kaskádovitě aktivují a tím spouštějí imunitní reakci. Hlavními složkami je 9 sérových proteinů C1 – C9, dále faktory (B, D, P), inhibitory a inaktivátory (H, I). Většina jich je syntetizována v játrech, ostatní v makrofázích a fibroblastech. Různé podněty spouští kaskádovitou aktivaci jednotlivých složek. Hlavními funkcemi komplementu jsou opsonizace (C3b), chemotaxe (C3a, C5a), prozánětlivé funkce (C3a, C5a) a osmotická lýza buněk (C5b – C9) – v důsledku cytotoxického působení membranolýtického komplexu. Ústřední složkou je C3b komponenta a terminálním produktem kaskády je komplex proteinů C5b, C6, C7, C8, C9 nazývaný MAC (membrane attack complex). Ten perforuje cytoplasmatické membrány některých buněk a působí jejich lýzu [ 222 ]. Komplement může být aktivován třemi cestami. Klasická cesta je zahájena aktivací C1 komplexu na površích, kde jsou navázány protilátky IgM, IgG nebo může být aktivována i proteiny akutní fáze, jako jsou CRP či sérový amyloid [ 223 ]. Součástí C1 komplexu je mj. collectin C1q. C1q tvoří molekulární můstek mezi vrozenou a adaptivní humorální imunitou. Alternativní cesta aktivace komplementu je neadaptivní, nespecifická imunitní reakce, která začíná u C3 přímým kontaktem s chemickými látkami, endotoxiny, ve stěnách bakterií apod [ 224 ]. Lektinová cesta aktivace komplementu je spuštěna pomocí lektinu vázajícího mannosu - MBL ( mannose binding lectin ) . Podobně jako C1q složka komplementu patří mezi collectiny. Cesta aktivace začíná vazbou na sacharidové povrchy řady mikroorganismů ( mannosu ). Představuje ale i molekulu, která je schopná rozlišovat sacharidové struktury, které se nacházejí na tělu vlastních glykoproteinech a dle dostupných informací váže i senescentní a apoptotické buňky a zvyšuje tak schopnost fagocytů tyto buňky pohlcovat [ 225, 226 ]. MBL existuje v komplexu s MBL asociovanými serinovými proteinázami ( MASPs). Po navazání příslušného sacharidu ( na povrch bakterie, apoptotické, senescentní buňky ) na tento komplex je aktivací MASP spuštěna komplementová kaskáda. MBL tak hraje roli solubilního PRR se schopností reagovat nejen na mikrobiota, ale i „poškozené“ struktury na apoptotických,

ale i nádorových buňkách nebo produkty poškozených tkání obecně [ 227, 228, 229 ]. V průběhu těhotenství je adekvátní funkce komplementu důležitá pro invazi trofoblastu a remodelaci spirální arterií [ 230 ]. Nepochybně funguje jako první obranná linie proti mikroorganismům a ochrana plodu proti jejich vlivům [ 231 ]. Ať už lokálně či systémově, na správnou formaci placentární cirkulace se mj. podílejí C1q a MBL [ 232, 233 ]. Určitá úroveň aktivace komplementu probíhá i v dalších fázích gravidity – podílí se mj na remodelaci děložního hrdla [ 234, 235 ] . Ve vlastní práci se věnuji vztahu snížení systémových mateřských hladin MBL k předčasnému porodu. Jak uvedu dále, současné vědecké poznatky stále více naznačují, že dutina děložní není sterilní. Zatím nemáme k dispozici žádné údaje o tom, jaký může být vztah mezi funkčním deficitem jednotlivých složek komplementu a různými mikroorganismy k předčasnému porodu či jiným těhotenským komplikacím . Podle dostupných poznatků je zjevné, jak „výpadek“ funkce kterékoliv součásti mateřské imunity ať už systémově nebo lokálně na materno-fetálním rozhraní může mít nepříznivé důsledky na přirozený vývoj těhotenství [ 236, 237 ]. Postupně byly identifikovány, v hrubých obrysech, složité dráhy, které se vyskytují na fetomaternálním rozhraní, tj. na úrovni spojení deciduy a trofoblastu. Prof. Petra Arck zavádí nový pojem, který nazývá fetomaternální cross-talk. Jedná se o vzájemnou a velmi rozsáhlou komunikaci mezi různými, výše uvedenými, podskupinami mateřských imunokompetentních buněk a deciduálních stromálních buněk a invazivně se chovajícími buňkami trofoblastu [ 238 ]. Ve zjednodušené podobě se dá říci, že trofoblast „edukuje“ mateřský imunitní systém podobně jako nádor [ 239, 240 ]. Pro vzájemnou komunikaci trofoblastu a mateřské imunity je klíčová prezentace paternálních HLA antigenů. HLA systém je systém antigenů, který se vyskytuje na buňkách našeho organismu a známe jej též pod názvem hlavní histokompatibilní komplex (MHC – Major Histocompatibility Complex). Jeho existence byla studována u leukocytů a odtud i název zkratky HLA (Human Leukocyte Antigen). HLA komplex je důležitý k rozpoznání buněk tělu vlastních od buněk cizorodých, buňky s cizorodým HLA systémem jsou napadány imunitním systémem. Hodnocení shody HLA komplexu je důležité při transplantacích, kdy u jedinců (dárce – příjemce) s kompatibilitou HLA systémů je výrazně nižší riziko vzniku imunitní reakce vůči transplantátu. Důležitý je i fakt, že určité podtypy HLA systému u daného jedince znamenají zvýšené riziko vzniku autoimunitních onemocnění. HLA (MHC) systém má více tříd, které se liší svou specifickou funkcí. HLA antigeny I. třídy se nachází na povrchu všech buněk organismu, a kromě odlišení vlastního od cizorodého umožňuje za určitých okolností prezentaci nitrobuněčných antigenů na povrch buňky. Dochází k tomu například u buněk infikovaných virem, které mohou díky tomu být rozpoznány a zlikvidovány. HLA II. třídy

umožňuje prezentaci původně zevních cizorodých antigenů a opět tím umožňují jejich rozpoznání imunitním systémem. HLA II. třídy se nevyskytují na všech buňkách, najdeme je typicky na povrchu specializovaných antigen prezentujících buněk, které prezentují fagocytózou pohlcené zevní antigeny imunitnímu systému. Pro adekvátní vývoj materno-fetální tolerance jsou důležité HLA antigeny I.třídy. Plod prezentuje paternální HLA antigeny mateřskému imunitnímu systému ve dvou oblastech. Syncytiotrofoblast je v kontaktu s imunokompetentními buňkami matky systémově ( je mj. uvolňován do mateřského oběhu ) . Extravilózní trofoblast rozptýlený v decidue exponuje HLA antigeny imunokompetentním buňkám lokálně [ 241 ] . Pro syncytiotrofoblast i extravilózní trofoblast je charakteristická absence exprese klasických molekul HLA I.třídy ( HLA-A,HLA-B). Jejich přítomnost na povrchu buněk trofoblastu by s sebou mohlo nést rozpoznání efektorovými T cytotoxickými lymfocyty a „odmítnutí a zlikvidování“ těhotenství. Oba typy trofoblastu naopak exprimují neklasické molekuly HLA-G, HLA-F, HLA-E molekuly I.třídy , které jsou ligandy inhibičních receptorů na povrchu uNK ( KIR – killer imunoglobulin receptor ), čímž chrání trofoblast proti lýze uNK buněk [ 242 ] . Nicméně extravilózní trofoblast exprimuje, kromě výše uvedených neklasických HLA antigenů , i HLA-C antigeny mateřského a otcovského původu. HLA-C antigeny také představují ligand KIR uNK a jejich adekvátní interakce představuje mj. molekulární základ remodelace spirálních arterií, na které se uNK buňky podílejí především [ 243, 244, 245 ] . Interakce KIR/HLA-C jsou studovány nejen v souvislosti s fyziologickým průběhem těhotenství, ale jeho patologickými výstupy, např. preeklampií , kdy některé vzájemné genetické kombinace mohou být spojeny s abnormálním formováním uteroplacentární cirkulace [ 246, 247 ] . Prezentace HLA-G trofoblastem patří mezi základní předpoklad indukce mateřské imunitní tolerance. Tato je dána především lokálním, ale i systémovým zvýšením počtu T regulačních lymfocytů, jak bude uvedeno dále [ 248 ] . Buňky trofoblastu produkujíIDO (indolamin 2,3-dioxygenáza), čímž potlačují odpověď mateřských T cytotoxických lymfocytů ( CD8 ) na základě snížení množství pro ně kritických aminokyselin [ 249 ] . Dalším mechanismem inhibice mateřské imunitní odpovědi je vazba HLA-G antigenů na inhibiční KIR uNK [ 250 ] . Za fyziologických podmínek fetomaternální cross-talk umožňuje vytvořit tolerogenní oblast, ve kterém se může vyvíjet semiallogenní plod [ 238 ] . Nové poznatky o této komunikaci nám mohou pomoci pochopit patogenezi některých těhotenských komplikací i špatné postnatální zdraví. Byly publikovány četné práce, které poukazují na vztah dysregulace různých imunokompetentních buněčných populací k předčasnému porodu [ 204, 251 ] . Například, uNK a uDC se podílejí na úspěšné implantaci a remodelaci spirálních arterií. Obecně se předpokládá, že jakékoli narušení jejich normální funkce může vést k různým



poruchám, počínaje selháním implantace, až po předčasný porod a preeklampsii [ 252, 253 ]. Není také pochyb o tom, že „downregulace“ ( snížení počtu, narušení supresní funkce) T regulačních lymfocytů je spojena s rizikem předčasného porodu. Důvody snížené funkce a/nebo jejich nižších počtů však stále nejsou zřejmé [ 207, 208, 254 ]. Doposud výzkumné projekty studující pozadí předčasného porodu vyzdvihovaly mateřský imunitní systém jako rozhodující v procesu „odmítání“ těhotenství. V průběhu těhotenství probíhá přes placentu rozsáhlý oboustranný transport mateřských a fetálních buněk s možnými rozsáhlými důsledky pro pozdější lidské zdraví [ 255, 256 ]. Velmi zajímavé zjištění přinesl kolektiv pod vedení Frascoli et al. Zjištění jeho skupiny ukazuje, že i plod může reagovat na mateřské antigeny „odmítavou“ reakcí. Zánětlivá reakce plodu a odmítnutí mateřských antigenů může přispět k signální kaskádě, která podporuje kontraktilitu dělohy. Navrhují, aby byla v patogenezi předčasného porodu zvažována i abnormální fetální imunitní reakce [ 257, 258 ].

### *Úloha mikrobiomu*

Vedle výzkumu imunity se pozornost obrací také ke studiu lidskému mikrobiomu a jeho možném podílu na spuštění předčasného porodu. Obrovský pokrok v poznávání mikroorganismů kolem nás přinesly nové možnosti v oblasti molekulární biologie - metagenomika. Stávající mikrobiologické techniky jsou zaměřeny především na studium kultivovaných vzorků mikroorganismů. Nicméně postupně se ukazuje, že izolace organismů silně podhodnocuje skutečnou mikrobiální různorodost ( diverzitu). Současné metagenomické studie používají anonymní sekvenování DNA izolované ze studovaného prostředí a umožňují podstatně přesněji definovat jednotlivé mikroorganismy, např. ve srovnání s kulturačními technikami [ 259 ]. V lidském organismu žije množství přirozených mikroorganismů, o nichž ještě nevíme, jaký je jejich vliv na lidské zdraví. Imunitní systém je musí registrovat a musí je odlišit od těch, které by mohli ohrozit zdraví. Hovoříme tedy o endogenních mikrobiotech neboli mikrobiomu daného tělesného kompartmentu. Mikrobiom je definován jak soubor komenzálních, symbiotických a patogenních bakterií, hub a virů a jejich genetických informací. Tvoří ekologickou entitu, kdy mikrobiota interagují vzájemně mezi sebou a s jejich hostitelem [ 260 ]. Jedním z cílů studií lidského mikrobiomu je určit, zdali existuje definovaný „základní“ ( angl.termín „core“ ) soubor mikrobiálních osídlení společný všem lidem pro daný tělesný kompartment, tj. nejen porodní cesty, ale i další orgánové systémy, jako je trávicí trakt apod. . Předpokládá se, že změny tohoto „základního“ mikrobiomu mohou korelovat se změnami v lidském zdraví nebo rizikem onemocnění. O vztahu narušení přirozené mikroflory ( dysbióze ) k různým nemocem, jako jsou obezita, nespecifické střevní záněty, diabetes

mellitus II. typu a kolorektální karcinom již bylo publikováno více prací [ 261, 262, 263 ]. Mnoho let jsme považovali a stále považujeme infekci za hlavní příčinu předčasného porodu. V předcházejícím textu je již zmíněno, že významně tento náhled pozměnila informace o tom, že dutina děložní nemusí být sterilní [ 264 ]. Posuzování přítomnosti mikrobiot v děloze v průběhu těhotenství je velmi komplikované a v současnosti je stále předmětem mnoha kontroverzí a přináší stále nové poznatky, ale také další otázky . Jednou z nejzásadnějších je otázka falešné pozitivivity vzorků, možnost kontaminace. Někteří autoři pak hovoří o tzv. „kitomu“ [ 265 ]. Na některé otázky zatím nelze adekvátně odpovědět. Například, lze sice doložit přítomnost mikrobů různými molekulárně genetickými technikami v plodové vodě i placentách po předčasném a termínovém porodu, ale zatím nelze posoudit jejich výskyt v oblasti fetomaternálního rozhraní v průběhu nekomplikovaného těhotenství [ 266 ]. Pokud hodnotíme mikroorganismy v placentách po porodech, nelze také odlišit, zdali představují dlouhodobé osídlení či invazi do dutiny děložní v průběhu těhotenství [ 267, 268 ]. Profesorky Prince a Aagaard publikovaly velmi důležitou práci , kdy porovnávaly mikrobiom placent z předčasných a termínových porodů a navíc sledovaly, jak souvisí mikrobiom placent s přítomností chorioamnionitis. Důležitým výstupem této práce bylo konstatování, že jak placenty z předčasných porodů, tak placenty z termínových porodů, obsahovaly stejný výčet bakteriálních společenství a lišily se pouze v kvantitě identifikovaných mikroorganismů. Placenty z termínových porodů vykazovaly významně vyšší výskyt *Lactobacillus crispatus* proti placentám z předčasných porodů [ 264 ]. Poznatky v této oblasti však přibývají velmi rychle a v době psaní habilitační práce někteří autoři přítomnost mikrobiot v děložní dutině zpochybňují [267, 269, 270 ]. Metodicky jednodušší možnost představuje hodnocení přítomnosti mikrobiot z ostatních částí porodních cest – z pochvy a děložního hrdla. Známe tedy již mikrobiom vaginální a cervikovaginální [ 271, 272, 273 ]. Jako první popsal vaginální mikrobiom Ravel. Výsledky jeho studie ukázaly, že pro lidskou pochvu není charakteristický jeden „základní“ mikrobiom společný všem ženám. Definoval celkem pět základních mikrobiomů, které označil jako komunitní skupiny I-V. Zavedl termín používaný i v českém názvosloví pod zkratkou CST – community state types. Jednotlivé CST lze rozlišit na základě dvou kritérií. Jednak, zdali v základních komunitách dominují acidofilní laktobacily, jednak podle toho, jaké jsou přítomny konkrétní druhy laktobacilů. Konkrétně pro CST I,II,III,V je charakteristická dominance *Laktobacillus species*. Pro CST I je typická dominance *Lactobacillus crispatus*, pro CST II *Lactobacillus gasseri*, pro CST III *Lactobacillus iners* a pro CST V *Lactobacillus jensenii* . CST IV nemá žádný specifický dominantní druh a byl označen jako různorodá skupina ( diverse group angl.) Skupina IV je

charakterizována vyššími podíly přísně anaerobních bakterií jako jsou *Prevotella*, *Dialister*, *Atopobium*, *Gardnerella*, *Megasphaera*, *Peptoniphilus*, *Sneathia*, *Eggerthella*, *Aerococcus*, *Finegoldia* a *Mobiluncus*. Typická pro CST IV je vyšší vyrovnanost jednotlivých bakteriálních společenství kvůli nedostatku dominantních druhů [ 271 ]. Vzhledem k velké různorodosti ( diverzitě ) bakteriálních společenství v CST IV není překvapující, že u žen s touto skupinou častěji nalézáme bakteriální vaginózu [ 274 ]. Jak ukazují dvě poslední práce, kompozice mikrobiot ( konkrétní CST ) v časném těhotenství má prokazatelný vliv na jeho pozdější průběh, konkrétně vyšší riziko předčasného porodu [ 275, 276 ]. Další práce shledávají podobné závěry, např. že vyšší diverzita mikroorganismů v pochvě je spojena s rizikem předčasného porodu [ 277 ]. Kindinger et al ve své práci dále uvádí, že je dominance *Lactobacillus iners* ( CST III ) v pochvě v 16.týdnu těhotenství spojena s vyšším výskytem předčasného porodu, zatímco dominance *Lactobacillus crispatus* ( CST I ) představuje “ochranu” před rizikem předčasného porodu a jeho výskyt v pochvě je spojen s častějším porodem v termínu. Přitom neshledal, že by přítomnost mikrobiot byla závislá na podávání progesteronu těhotných ženám [ 278 ]. V recentní práci Elovitz studoval vztah přítomnosti cervikovaginálních mikrobiot a lokální produkci antimikrobiálního peptidu beta-defensinu-2 zjišťovaném v cervikovaginálním sekretu. Z jeho práce vyplývá důležitý poznatek, kdy samotná přítomnost definovaných bakteriálních CST sama o sobě nemusí mít rozhodující význam pro spuštění předčasného porodu, ale že jednotlivá CST ovlivňují lokální imunitní odpověď organismu odlišně [ 279 ]. Prof. Gil Mor proto navrhuje nové paradigma, kdy podle něj mikrobiota modulují interakci trofoblastu a imunity v průběhu těhotenství [ 8 ]. Není však dosud jasné, ze které části lidského těla mohou mít mikrobiota dosah na průběh těhotenství. Přestože se nabízí především jejich lokální vliv v porodních cestách a jejich relativní „blížkost“ plodu, někteří autoři předpokládají i interkonektivitu mezi mikrobiomy jednotlivých tělesných kompartmentů [ 280, 281 ]. Předmětem diskusí je vztah orálního mikrobiomu a mikrobiot trávicího traktu k osídlení porodních cest, nejpravděpodobnější se jeví přenos krevní cestou. Zástupci rodů charakteristických pro ústní dutinu , jako jsou *Streptococcus*, *Porphyromonas*, *Filifactor*, *Campylobacter* a *Fusobacterium* představují druhy, které jsou opakovaně spojovány s předčasným porodem [ 282 ]. Změny mikrobiální diverzity v lidském střevě v průběhu těhotenství spojené s dominancí *Proteobacteria* and *Acinetobacteria* a redukcí výskytu některých bakterií rodu *Clostridium* a *Bacteroides* jsou také spojeny s předčasným porodem [ 283 ] . Neméně zajímavé jsou informace o tom, že některé bakteriální kmeny, právě z výše uvedených rodů *Clostridium* a *Bacteroides*, jsou schopny modulovat lokální imunitní systém v lidském střevě, konkrétně zvyšovat počty T regulačních lymfocytů [ 284, 285 ]. Závěrem této

kapitoly lze říci, že klasické mikrobiologické techniky detekující mikroorganismy v porodních cestách budou mít nadále v porodnictví své pevné místo. Informace o jejich přítomnosti ( získané např. kultivací ) však se vši pravděpodobností o příčinách předčasného porodu mnoho nevyovídají. Stále však představují důležitou informaci pro neonatology kvůli možnému ovlivnění postnatálního zdraví novorozenců, především riziku neonatální sepse či dalších komplikací. Metagenomické studie přinášejí , ve srovnání s kulturačními technikami, podstatně přesnější údaje o konkrétním výskytu mikroorganismů. Lidské tělo je kolonizováno komenzálními mikroby, jejichž kompozice se vyvíjí spolu s imunitním systémem hostitele. Složení mikrobiomů se může ve vývoji člověka měnit v závislostech na genetice hostitele, změnách stravovacích návyků, nadužíváním antibiotik apod. Zvláště komenzální mikrobiota jsou nezbytná pro vývoj, indukci a funkci T-lymfocytů a udržení homeostázy v lidském těle. Kvalitativní a kvantitativní změny mikrobiomů tak mohou způsobit nerovnováhu v populacích T-lymfocytů a podpořit rozvoj autoimunitních a zánětlivých onemocnění, mezi než se řadí mj. i předčasný porod. Lze očekávat, že odpovědi na otázky spojené s příčinami předčasného porodu bude potřeba hledat v interakcích mezi mateřskou imunitou, plodem a mikroorganismy osídlující lidské tělo [ 286 ].

#### **4.6 Klinický obraz předčasného porodu**

Spontánní předčasný porod zahrnuje dva základní klinické obrazy. První představuje probíhající spontánní předčasný porod s pravidelnými kontrakcemi, zachovalými plodovými obaly a zjevnou progresí vaginálního nálezu v krátkém časovém horizontu. Druhou skupinu tvoří těhotné s předčasným předtermínovým odtokem plodové vody, kdy se i v českém odborném písemnictví ustálila anglická zkratka PPRM ( Preterm Prelabour Rupture of Membranes) . Kromě těchto termínů je potřeba pokusit se definovat pojem „hrozící předčasný porod“. Tento stav se liší od zjevně probíhajícího předčasného porodu a je od něj často neostře ohraničen. Pojem hrozící předčasný porod chápeme jako stav, kdy dochází k neobvyklé děložní aktivitě a/nebo má těhotná krátké děložní hrdlo. Pokud se jedná o děložní aktivitu, je charakterizována více jak čtyřmi kontrakcemi během dvaceti minut nebo více jak osmi kontrakcemi za hodinu s objektivně patrnou progresí vaginálního nálezu, kdy lze očekávat porod do 7 dní. Oba stavy, tj. neobvyklá děložní činnost i krátké hrdlo, mohou buď vyústit v probíhající spontánní předčasný porod/PPROM nebo se porodnickým managementem ( viz níže ) podaří situaci stabilizovat a porod oddálit. Krátké děložní hrdlo ( angl.short cervix ) je definováno zkrácením děložního hrdla mezi 20. až 30. týdnem těhotenství pod 25 mm

(transvaginální cervikometrie ultrazvukem) [ 287 ]. Krátké děložní hrdlo chápeme jako důsledek předčasné remodelace děložního hrdla a může být předobrazem spontánního předčasného porodu nebo PPRM [ 288 ] . Kromě zjevně probíhajícího spontánního předčasného porodu, PPRM a hrozícího předčasného porodu je v literatuře skloňována ještě jedna nosologická jednotka, kterou nazýváme „nevysvětlitelné krvácení z dělohy.“ Tato situace není v řadě učebnic materno-fetální medicíny považována za „klasický“ fenotyp předčasného porodu. Krvácení v I. a II. trimestru je za významný rizikový faktor předčasného porodu považováno. Pokud vyloučíme jiné příčiny, z patofyziologického pohledu je na místě považovat krvácení z dělohy za možný obraz deciduální hemorrhagie, jak je uvedeno v kapitole o patofyziologii předčasného porodu. Zde jsou popsány i další souvislosti. Při velké intenzitě krvácení je diagnóza často uzavřena jasně – abrupce placenty. Pochybnosti často nastávají, pokud se jedná o nárazové, intermitentní krvácení z rodidel. Z klinického pohledu je takové krvácení z dělohy nevysvětlitelného původu vhodné považovat za možný projev deciduální hemorrhagie a tedy „předobraz“ následného spontánního předčasného porodu a těhotnou pečlivě sledovat [ 289 ].

#### **4.7 Diagnostika předčasného porodu**

Jak je již uvedeno výše, probíhající spontánní předčasný porod je klinický zjevný proces, kdy dochází při pravidelné děložní činnosti k progresi vaginální nálezu v krátkém časovém úseku a přestože učiníme opatření k jeho oddálení ( podání tokolytik, viz dále management ), nedaří se ho zastavit. Také předčasný předtermínový odtok plodové vody ( PPRM ) je většinou relativně jasnou klinickou situací, nicméně i zde lze pro potvrzení diagnózy učinit různá vyšetření. K potvrzení/vyloučení využíváme především anamnestické údaje o tekutině z rodidel ( informace těhotné o charakteru a dynamice odtoku tekutiny z rodidel, údaj o event. pohlavním styku a zavádění vaginálních tablet ) a průkaz depa plodové vody v zadní klenbě poševní při vyšetření v zrcadlech. K objektivizaci je možno použít Temešváryho zkoušky. Tato je založená na změně kyselého pH pochvy na zásadité při odtoku plodové vody, kdy dochází k barevné reakci bromthymolu v zásaditém prostředí – původně oranžová barva Temesváryho činidla se mění při kontaktu s plodovou vodou na modrozelenou. Falešně pozitivní výsledek můžeme nicméně získat v přítomnosti krve, spermatu, alkalických antiseptik i bakteriální vaginózy, falešně negativní výsledek pak při anhydramniu . Pokud je tekutiny velmi málo, další možností je využít relativně specifické ( komerční ) testy na přítomnost proteinů hojně v plodové vodě přítomných , např. Placental Alpha Microglobulin-1 (PAMG-1 ) či Insulin-Like Growth Factor

binding protein-1 ( IGFBP-1 ) [ 290, 291 ] . V nejasných případech je však vždy nutné brát v potaz, že tyto testy na průkaz plodové vody ve vaginální tekutině mohou být pozitivní i u pacientek se zachovaným vakem blan s vysokým rizikem porodu do 7 dnů. Ultrazvukový průkaz oligohydramnia může být v některých případech také užitečný k potvrzení diagnózy. Závěr o předčasném odtoku plodové vody tedy činíme na základě kombinace anamnestických údajů, klinického vyšetření, laboratorních testů a ultrazvukového vyšetření. Při přetrvávajících pochybnostech je vhodné ženu přijmout k pozorování a další postup přehodnocujeme dle aktuálního klinického stavu a event. opakování výše uvedených vyšetření. Předčasný porod může být dále provázen zánětlivou reakcí – tzv. intraamniálním zánětem či mikrobiální invazí do amniální dutiny ( MIAC ) či ještě robustnějším zánětlivým procesem – tzv. klinickou chorioamnionitis – viz dále.

#### **4.8 Hrozící předčasný porod – možnosti predikce**

Na rozdíl od zjevně probíhajícího spontánního předčasného porodu a PPRM představuje odhalení hrozícího předčasného porodu mnohem komplikovanější oblast. Jak je již uvedeno v předcházejících kapitolách, tato problematika zahrnuje těhotné ženy s krátkým děložním hrdlem a/nebo pacientky, které se prezentují s neobvyklou děložní činností, která ale zatím nesplňuje kritéria probíhajícího spontánního předčasného porodu. Právě tato skupina pacientek představuje pro náš obor skutečnou výzvu, dle dostupných dat je zřejmé, že se různými opatřeními může předčasný porod minimálně oddálit. Výzkum je v této oblasti zaměřen především na takové ukazatele, které odráží skryté ( dosud ne klinicky zjevné ) procesy, vedoucí k předčasnému porodu. Cílem soudobých studií je zjistit, do jaké míry je možné odhalit změny provázející jednotlivé patofyziologické projevy předčasného porodu. Nejlépe jsou v současnosti prozkoumány změny, které se týkají aktivace deciduy a plodových obalů a remodelace děložního hrdla. Předčasná remodelace hrdla ( před termínovým porodem se tak děje přirozeně v řádu týdnů ) má za důsledek jeho kvalitativní změny. Prosté vaginální vyšetření tyto změny nemůže adekvátně rozpoznat a není považováno v predikci spontánní prematurity za přínosné [ 292 ] . Přesnější hodnocení představuje měření délky děložního hrdla ultrazvukovou vaginální sondou – tzv. ultrazvukovou cervikometrií . Metodika je již zavedena mnoho let [ 293 ] . Ultrazvuková cervikometrie s sebou nese především hodnocení délky děložního hrdla – více jak 25 mm považujeme za normální hodnoty do 30.týdne . Za touto hranicí probíhá remodelace hrdla přirozeně a zcela individuálně u každé těhotné jinak a tak není vyšetření v předpovědi předčasného porodu přínosné. Pro posouzení rizika

předčasného porodu má význam hodnocení uzavřené části děložního hrdla – zde by měla být délka minimálně uvedených 25 mm. Dalším doplňkovým ukazatelem při vyšetření cervikometrií je přítomnost buněčné debris – tzv. sludge. Přítomnost „sludge“ je považována za subklinický projev intraamniálního zánětu/infekce (viz dále) a nese sebou nezávislé riziko předčasného porodu před 32.týdnem těhotenství [ 294 ]. Samotný tzv. „funneling“, tj. otevírání kanálu děložního hrdla, není přínosný v predikci předčasného porodu, pakliže je délka uzavřené části děložního hrdla nad 25 mm [ 295 ]. Řadu let probíhala diskuse, zdali provádět rutinní měření délky děložního hrdla u těhotných s cílem včas zachytit subklinické změny – předčasnou remodelaci děložního hrdla - provázející zánětlivý proces předčasného porodu . Přes rozsáhlou diskusi se nyní většina autorit shoduje, že vyšetření má přínos v sekundární prevenci předčasného porodu nehledě na to, zdali se jedná o první těhotenství nebo těhotenství s anamnézou předčasného porodu. Je zřejmé, že tento univerzální screening délky hrdla snižuje, díky možným intervencím, riziko předčasného porodu před 32.týdnem ( OR 0,81 ) , před 34.týdnem ( OR 0,78 ) i před 37.týdnem ( 0,76 ) těhotenství [ 296 ]. Vyšetření provádíme mezi 18-24.týdnem těhotenství a při nálezů zkrácení děložního hrdla pod 25 mm lze ženám nabídnout progesteron vaginálně, jak bude uvedeno dále [ 297 ]. Podle všech dostupných dat je vyšetření navíc přínosné i z hlediska souhrnných nákladů na péči – je tzv. cost effective [ 298 ]. Nevýhodou rutinního vyšetřování děložního hrdla ultrazvukem je fakt, že většina žen má naměřenou děložního hrdla normální a naopak, jen 30% těhotných s krátkým hrdlem - bez intervence – porodí před 35.týdnem těhotenství a výsledek vyšetření tak může být pro těhotné stresující [ 299 ]. Proto je snaha stále hledat další metody, které by dokázaly – v kombinaci s cervikometrií - riziko předčasného porodu přesněji určit. Zásadní význam má upřesnění predikce pro adekvátní časování podání kortikoidů v indukci plicní zralosti a tokolýzy v oddálení porodu. Mezi nejvýznamnější metody, které k takovému účelu mají sloužit, je testování žen na přítomnost relativně specifických biomarkerů vyskytujících se v porodních cestách těhotných. Výskyt těchto biomarkerů provází další patofyziologické změny v porodních cestách, tzv. předčasnou aktivaci deciduy a plodových obalů. Z celé řady různých zkoumaných biochemických markerů, které by mohly pomoci odhalit hrozbu předčasného porodu, se v současné době uplatňuje v klinické praxi především fetální fibronektin ( fFN ). Fetální fibronektin je glykoprotein, který je produkován trofoblastem a je normálně detekovatelný v cervikovaginální tekutině na počátku těhotenství. Je-li průběh těhotenství fyziologický, není po 22. týdnu těhotenství fFN v cervikovaginální tekutině přítomen. Jeho výskyt v cervikovaginálním sekretu po 22.ukončeném týdnu může signalizovat hrozící předčasný porod . fFN se znovu objevuje v cervikálním sekretu, v rámci fyziologických změn

v porodních cestách, po 36. týdnu těhotenství. Vyšetření je prováděno pomocí štětičky z „poolu“ tekutiny v zadní klenbě poševní. Hodnocení je možné provést buď semikvantitativní cestou ( papírkem ) nebo kvantitativně ( přímé měření koncentrace v pufru rozpuštěného fFN ). Koncentrace fFN 50 ng/mL je stanovena jako „cut off“. V případě semikvantitativního vyšetření výsledek interpretujeme podobně jako těhotenský test, kdy jsou dvě čárky na testovacím proužku chápány jako pozitivní výsledek, jedna jako negativní. Kvalitativní vyšetření koncentrace fFN v cervikovaginálním sekretu považujeme za přesnější - hodnotíme konkrétní hladinu fFN. Čím vyšší koncentrace fFN, tím lze očekávat riziko předčasného porodu vyšší. Uvolňování fFN do choriodeciduálního prostoru ( a následně do cervikovaginálního sekretu ) je považováno za jeden z průvodních projevů aktivace deciduy a plodových obalů [ 300 ]. Dosavadní výzkum v této oblasti ukázal , že má stanovení fFN především vysokou negativní predikční hodnotu. Pozitivní predikční hodnota stran předčasného porodu je relativně nízká ( 43- 73 %). Dostupná data však ukazují , že je-li test negativní , je zde až 99,7% pravděpodobnost , že nedojde k předčasnému porodu do 14 dní a až 93% pravděpodobnost, že žena neporodí do 37.týdne těhotenství [ 301 ] . Analýza dosavadních zkušeností s metodou ukázala, že se zapojení fetálního fibronektinu do managementu může riziko předčasného porodu snížit [ 302 ]. Zároveň různé práce uvádějí, že samostatné využití fibronektinu, tj.bez kontextu s cervikometrií, nemá přínos ( falešná pozitivita ) v hodnocení rizika předčasného porodu a naopak může vést nejen k zbytečným intervencím, ale i vyššímu stresu těhotných. Autority v oboru se shodují, že má smysl fetální fibronektin testovat jen u vysoce rizikových žen, konkrétně u těhotných s krátkým děložním hrdlem. Podle různých prací ultrazvukový nález krátkého děložního hrdla a pozitivního fetálního fibronektinu zlepšuje predikci předčasného porodu [ 303, 304, 305 ]. Aktivaci deciduy a plodových obalů můžeme posuzovat také detekcí dalších dvou ukazatelů, které se v takových případech mají tendenci uvolňovat z choriodeciduálního prostoru do cervikovaginálního sekretu. Jedná se placentární alfa-mikroglobulin-1 ( PAMG-1) a fosforylovaný Insulin like growth factor binding protein 1 ( phIGFBP-1 ) [ 306 ]. I tato vyšetření využíváme jen u žen s vyšším rizikem předčasného porodu – tj. s krátkým hrdlem. Kombinace využití PAMG-1 a cervikometrie přináší stran predikce předčasného porodu srovnatelné výsledky jako výše uvedená kombinace fFN a cervikometrie [ 307 ]. Pokračuje hledání dalších ukazatelů, které by mohly spolu s cervikometrií a biomarkery dále upřesnit riziko předčasného porodu. Jedním z nadějných směrů se jeví hledání vybraných imunologických ukazatelů, jak bude uvedeno v prezentaci dosažených vědeckých výsledků.



#### 4.9 Možnosti diagnostiky intraamniálního zánětu

Nejprve je potřeba definovat jednotlivé pojmy. I v odborné veřejnosti jsou níže uvedené pojmy za sebe často zaměňovány. Pojem intraamniální zánět, zahrnující zánětlivou odpověď plodových obalů, placenty, pupečníku a případně i plodu – tzv. FIRS , je charakterizován – obecně – přítomností zánětlivých cytokinů v plodové vodě zjištěných aminocentézou nebo neinvazivní cestou z pochvy. Systémová zánětlivá odpověď plodu je prokazatelně spojena s vyšším rizikem předčasného porodu i vyšší pravděpodobností morbidit dětí [ 133, 308 ] . Intraamniální zánět může nebo nemusí být provázen mikrobiální invazí do dutiny děložní ( MIAC – microbial invasion of amniotic cavity) [ 309 ] . Jak intraamniální ( sterilní ) zánět , tak MIAC, mohou provázet jak spontánní předčasný porod se zachovalou plodovou vodou, tak PPRM. V kapitole o patofyziologii předčasného porodu uvádím současné možnosti detekce intraamniálního zánětu a případné mikrobiální invaze do dutiny děložní ( MIAC ). MIAC nemusí být provázena žádnou zjevnou klinickou odezvou, může však spojena s přítomností krátkého děložního hrdla [ 310 ] . MIAC je potvrzena kultivací plodové vody, ale nově je možné k detekci mikroorganismů využít molekulárně genetické stanovení jejich přítomnosti pomocí kvantitativního PCR ( qPCR ) [ 311 ] . MIAC již může být, ale ne zcela nezbytně , provázena zjevnou intraamniální infekcí. Pojmy MIAC a intraamniální infekce jsou z hlediska klinického významu od sebe „neostře“ odděleny. Jak je již uvedeno výše, MIAC je detekována objektivním průkazem mikroorganismů získaných odběrem plodové vody, druhá už bývá navíc zpravidla provázena klinickou chorioamnionitis. Naopak, pojem intraamniální zánět je vyhrazen pro situace, kdy jsou objektivně doložitelné zánětlivé změny v plodové vodě ( cytokiny ) a přitom se nedaří prokázat MIAC [ 312, 313 ] . Objektivně se intraamniální infekce/zánět, jako tzv. klinická chorioamnionitis, může většinou projevit až při pokročilém průběhu ( horečka matky nad 38 °C, tachykardie matky a/nebo plodu, zvýšený děložní tonus, zápachající výtok apod.) [ 314 ] Ve většině případů však probíhá spíše subklinicky a ani absence zjevných příznaků ji nevylučuje [ 315 ] . Při hrozícím či již probíhajícím předčasném porodu, především při PPRM , je prioritou snažit se intraamniální infekci/zánět při přijetí pacientky. Senzitivita stávajících vyšetření, tj. především stanovení diferenciálního počtu neutrofilních granulocytů a CRP ze séra matky, je poměrně nízká, navíc tato vyšetření vypovídají především o kompartmentu matky. Hladiny běžně používaných markerů zánětu nemusí odrážet případnou současnou zánětlivou odpověď plodu. Dle různých studií je zřejmé, že v některých případech vzniká infekce/zánětlivá odpověď plodu ( FIRS ) , i když není přítomna mateřská zánětlivá odpověď např. na mikrobiální kolonizaci [ 133 ] . Cílem

současného výzkumu je „přiblížit se“ kompartmentu plodu a zpřesnit diagnostiku intraamniální infekce/zánětu, jejichž přítomnost může ovlivnit následnou morbiditu dítěte. V běžné klinické praxi je zatím nejvíce využíván v diagnostice zánětlivého procesu předčasného porodu stanovení krevního obrazu (počet leukocytů) a z biochemických vyšetření CRP – tato vyšetření jsou součástí základních odběrů při přijetí pacientek. Elevace hodnot CRP či leukocytů nemusí být vždy spojena s přímo s účastí infekce, jejich zvýšené hodnoty odrážejí přítomnost zánětu obecně, přítom infekce představuje jen jednu z jeho možných příčin. Celá řada prací se zabývala sensitivitou CRP a dalších ukazatelů z mateřské krve v detekci předčasného porodu a intraamniálního zánětu/infekce. Sensitivita jak krevního obrazu, tak CRP, kolísala v různých pracech od 33 % do 100 %, CRP ji vykazuje vyšší [ 316 ]. Je mj. známo, že hodnoty počtu leukocytů jsou modifikovány podáním kortikoidů. Kortikoidy snižují adheenci neutrofilních granulocytů k cévní stěně, důsledkem jejich působení je vyplavení neutrofilních granulocytů do cévního řečiště. Můžeme posoudit i diferenciální rozpočet leukocytů. Nevýhodu výše uvedených vyšetření jsem již uvedl: jedná se o mateřské hematologické a biochemické markery posuzující pouze případnou mateřskou zánětlivou odpověď, nemusí souviset s fetální zánětlivou odpovědí. Přesto výzkumné projekty v této oblasti nadále pokračují, s cílem hledat takové parametry, jejichž měnicí se hladiny mohou odrážet skrytý zánětlivý proces vedoucí k předčasnému porodu i fetální zánětlivé odpovědi. Jedním z vyšetření, které pomáhá detekovat možný intraamniální zánět či infekci představuje hodnocení přítomnosti již uvedeného „sludge“ (bláto angl.) v plodové vodě při vyšetření ultrazvukem. Jeho přítomnost je prokazatelně spojena s rizikem výskytu infekce i zánětu [ 317 ]. Různé práce se zabývaly detekcí intraamniálního zánětu/infekce pomocí odběru plodové vody. Velmi významnou měrou přispěla k výzkumu v této oblasti skupina kolem profesora Kacerovského univerzitní gynekologicko-porodnické kliniky Fakultní nemocnice v Hradci Králové [ 309 ]. Řada prací nejen jeho týmu prokázala, že nejlépe souvisí s výskytem intraamniálního zánětu a následnou zánětlivou odpovědí dětí (FIRS) elevace interleukinu – 6 v plodové vodě [ 318 ]. Dalším ukazatelem, který je v plodové vodě detekovatelný a jehož zvýšení provází zánětlivou odpověď je matrixmetalloproteináza 8 (MMP-8) [ 319 ]. V posledních letech se již více diskutuje nejen o dílčí úloze jednotlivých cytokinů, ale o inflammasomu a jeho vztahu k předčasnému porodu. Inflammasom je součástí vrozeného imunitního systému a představuje soubor cytosolových multiproteinových oligomerů. Je odpovědný za aktivaci zánětlivých odpovědí. Inflammasom byl donedávna tradičně studován hlavně s souvislostí s funkcí buněk vrozeného imunitního systému, především makrofágů.

V současnosti popisována exprese komponent inflammosomu i na epitelálních buňkách, které se tak prezentují jako první „obránná linie“. Aktivace inflammosomu je iniciována různými typy cytosolových PRR a v současnosti je již doloženo, že provází spontánní předčasný porod s intraamniální infekcí i zánětem [ 320 ]. Přestože se nabízí, že přítomnost intramniálního zánětu/infekce ohrožuje plod v děloze a je lepší pacientku směřovat k případnému ukončení těhotenství, je zatím dle dosavadních znalostí zřejmé, že krátkodobá morbidita dětí je nejvíce závislá na týdnu těhotenství, kterého dosáhnou. A to i přes průkaz probíhajícího intraamniálního zánětu či MIAC [ 321 ] . Jistě je tedy potřeba dalšího výzkumu k osvětlení úlohy intraamniálního zánětu a infekce v patogenezi předčasného porodu. Dále je potřeba zkoumat, jaký je vztah jich přítomnosti k dlouhodobé morbiditě dětí.

#### **4.10 Management předčasného porodu**

Cílem porodnického managementu předčasného porodu je prodloužení těhotenství. Mezi hlavní nástroje patří podání tokolýzy, kortikoidů k indukci plicní zralosti plodu a případně antibiotik, jak bude uvedené dále. Management předčasného porodu závisí na konkrétním klinickém obrazu. Nejprve uvedu obecný přehled opatření a v další části pak předestřu, jak se management liší u žen s kontrakcemi a zachovalou plodovou vodou od žen s PPRM. Na závěr této kapitoly se věnuji managementu předčasného porodu v šedé zóně.

##### *4.10.1 Tokolýza*

Tokolýzou nazýváme podávání léků, s cílem zastavit nebo zmírnit kontrakční činnosti dělohy a tím oddálit porod. Cílem je získat čas k aplikaci kortikosteroidů k indukci plicní zralosti a umožnit transport plodu in utero do perinatologického nebo intermediárního centra [ 322, 323 ]. Placebem kontrolované studie ukazují, že užití tokolytik s sebou nese možnost prodloužení těhotenství o 2 až 7 dní. Pokud se hodnotí jejich vliv na snížení perinatální morbidity a mortality – bez kontextu jejich využití s kortikoidy – nepřináší jejich samotné využití prospěch. Z tohoto důvodu - a také při možných nežádoucích dopadech na matku a plod - je doporučeno podávat tokolýzu jen po dobu aplikace kortikoidů, tj. přibližně 48 hodin. Jejich hlavní význam tak spočívá hlavně v získání času pro dokončení kompletní kúry kortikoidů, jak bude uvedeno dále. Dosavadní studie neprokázaly rozdíly v tokolytické účinnosti mezi jednotlivými farmaky. Volba preparátu záleží na zkušenostech pracoviště a farmakologických kontraindikacích. Pokud ty jsou zohledněny, jeví se všechna uváděná tokolytika jako bezpečná pro plod [ 324 ]. Tokolýza se v porodnictví používá nejen

k zastavení/oddálení předčasného porodu, ale má i další významné využití. Slouží také k úpravě děložních kontrakcí při cervikokorporální dystokii nebo při počínajících známkách nitroděložní tísně plodu, k zastavení děložní činnosti před císařským řezem, v perioperačním období při cerclage nebo chirurgické intervenci při zachovaném těhotenství (např. appendektomii). Používá se také při obratu plodu. Tokolýzu se obvykle nedoporučuje zahájit dříve než ve 24. týdnu (24+0) těhotenství, nicméně jak bude uvedeno dále, v případě těhotenství s rizikem předčasného porodu v „šedé zóně“ její využití individuálně zvažujeme. Horní hranicí podání tokolýzy je 34. týden těhotenství ( 34+6 ) [ 325 ]. Absolutními kontraindikacemi tokolýzy v porodnictví jsou krvácení z rodidel – podezření na abrupci placenty a intraamniální zánět. Při zahájení léčby tokolytiky je doporučováno monitorovat krevní tlak, puls a dechovou aktivitu matky každé dvě hodiny. Při závažných nežádoucích účincích – projevy dechové tísně, tachykardii, arytmií, tremoru, cerebrovaskulárních příznacích, erytému je nutno léčbu ihned přerušit. Při aplikaci  $\beta$ -sympatomimetika by aplikaci mělo provázet vyšetření EKG a ev. interní kontrola.

Přehled používaných tokolytik:

- antagonisty oxytocinových receptorů (atosiban sol.),
- $\beta$ -sympatomimetika (hexoprenalin amp.)
- blokátory kalciových kanálů (nifedipin tbl),
- inhibitory syntézy prostaglandinů (indometacin rekt.supp.),

#### *Antagonista oxytocinových receptorů (atosiban)*

Metaanalýza 14 studií posuzujících účinnost antagonistů oxytocinových receptorů zjistila stejný efekt na prodloužení těhotenství ve srovnání s jinými tokolytiky. Jejich podávání je ale spojené s menším výskytem nežádoucích účinků u těhotných. Trvání léčby nemá přesáhnout 48 hodin. Celková aplikovaná dávka v průběhu jednoho cyklu by neměla přesáhnout 330 mg léčivé dávky. V případě potřeby je možno aplikaci opakovat [ 326 ]. Atosiban nemá žádnou farmakologicky vázanou kontraindikaci, platí pro něj jen všechny obecně platné kontraindikace tokolýzy. Nežádoucí účinky jsou vzácné - hypotenze, nespavost, pruritus, alergická reakce.

#### *$\beta$ -sympatomimetika (hexoprenalin)*

Tato skupina tokolytik patří mezi nejrozšířenější, nicméně má poměrně velkou paletu nežádoucích účinků. Dávkuje se ve formě kontinuální infuze 2 ampule 25 ug hexoprenalinu v 500 ml fyziologického roztoku rychlostí 60-100 ml/hodinu. Mezi nežádoucí vedlejší účinky

na matku patří: periferní vasodilatace, tachykardie, palpitace, dyspnoe, pocit horka, třes končetin, bolest hlavy, srdeční arytmie, střevní atonie, pokles TK, průjem, dyspnoe, pocení, glykosurie, zvýšení hodnot jaterních transamináz. Nejnebezpečnější komplikací představuje plicní edém, typicky ho můžeme častěji vidět u vícečetných gravidit při pozitivní bilanci tekutin a současně aplikaci kortikosteroidů. Nežádoucí vedlejší účinky na novorozence představují hlavně hypoglykémie, hypokalcémie, pokles TK, poruchy srdečního rytmu, ischemie myokardu, plicní edém, ventrikulární hemorhagie v CNS. Beta mimetika mají specifické, farmakologicky vázané, kontraindikace. Jsou jimi přecitlivělost na  $\beta$ -sympatomimetika, kardiovaskulární onemocnění ( tachykardie, myokarditis, mitrální vady, stenóza aorty, hypertenze ), feochromocytom, hyperthyreóza, poruchy funkce jater a ledvin, diabetes mellitus. Pro relativně časté nežádoucí účinky patří mezi obligatorní opatření při sledování pravidelné hodnocení mateřského pulsu, TK a dechové aktivity. Aplikaci by mělo předcházet vyšetření EKG a interní kontrola. Při nadměrných nežádoucích účincích – respiračním distresu, srdeční frekvenci nad 130/min., neuromuskulárních příznacích, tremoru, cerebrálních vazospazmech, erytému, kožních vaskulitidách je nutno léčbu okamžitě přerušit [ 327 ].

#### *Blokátory kalciových kanálů (nifedipin )*

Blokátory kalciových kanálů jsou v medicíně využívány především jako antiarytmika či antihypertenziva. Pro akutní tokolýzu je doporučeno podávat 20 mg nifedipinu na úvod p. o. Pokud kontrakce přetrvávají i po 30 minutách, podávat další 10–20 mg nifedipinu p. o., v odstupu minimálně 30 minut, další 3 dávky, tj. max. 4x denně. Udržovací dávka další den 20–40 mg denně rozdělené do dvou dávek p. o. Maximální denní dávka by neměla přesáhnout 160 mg. Farmakologické kontraindikace představují kardiogenní šok, těžká aortální stenóza, porfyrie, těžká srdeční insuficience. Mezi nejčastější nežádoucí účinky patří hypotenze, tachykardie, palpitace, flush, bolesti hlavy [ 328 ].

#### *Inhibitory syntézy prostaglandinů (indometacin)*

Pro akutní tokolýzu se doporučuje iniciační dávka 50–100 mg p. o. Pokud kontrakce přetrvávají, pak se pokračuje s podáváním 25–50 mg p. o. v intervalu 4–6 hodin po dobu 48 hodin. Indometacin prochází placentou a může mít závažné neonatální důsledky, pokud je používán déle než 48 hodin nebo po 32. týdnu těhotenství. Při použití mimo stanovené hranice může dojít ke snížení množství plodové vody až k perzistující fetální anurii ( stenóza fetálních renálních arterií ). Až v 50 % případů dochází ke konstrikci ductus arteriosus. Uvedené nežádoucí účinky

však prakticky nejsou zaznamenávány před 32.týdnem těhotenství, je-li dodrženo výše uvedené schéma podávání. Mezi hlavní farmakologické kontraindikace patří ty, které platí pro nesteroidní antirevmatika obecně, tj. závažné postižení jater, vředová choroba gastroduodena, konečné stádium chronického selhání ledvin [ 329 ].

#### 4.10.2 Kortikosteroidy

Předčasně narozené děti , narozené zejména před 32. týdnem těhotenství, mají vysoké riziko syndromu respirační tísně ( respiratory distress syndrome – RDS ), což je závažná komplikace, která zůstává hlavní příčinou neonatální úmrtnosti. RDS se vyvíjí v důsledku nedostatku surfaktantu, látky produkované pneumocyty druhého řádu, během antenatálního vývoje plic. Riziko RDS a novorozenecké úmrtnosti se snižuje s týdnem těhotenství, což odráží zralost orgánových systémů. Léčbě, která by mohla snížit výskyt RDS u předčasně narozených dětí, byla proto věnována značná pozornost. Již Liggins v r. 1969 zjistil, že podání kortikoidů březí ovci významně zlepšuje funkční zralost plic předčasně rozených jehňat [ 330 ].

V současné době již jsou k dispozici nezpochybnitelné důkazy o tom, že podání jedné kúry kortikoidů může snížit:

- riziko neonatálního úmrtí o 31 % (95 % CI 19–42 %),
- riziko RDS o 44 % (95 % CI 31–57 %),
- riziko intraventrikulárního krvácení o 46 % (95 % CI 31–67%)

[ 331 ].

Doporučuje se podávat 12 mg betamethazonu i.m. ve dvou dávkách po 24 hodinách a nebo 6 mg dexamethazonu i.m. podávaných ve 4 dávkách po 12 hodinách. Kortikosteroidy jsou nejčastěji podávány u žen s rizikem předčasného porodu v nejbližších 7 dnech, tj. obvykle mezi 24+0 až 34+6 [ 332, 333 ]. V 22+0 až 23+6 týdnu těhotenství indikujeme podání kortikosteroidů pouze po důkladné rozvaze s přihlédnutím k individuálním aspektům. Kortikoidy bychom měli aplikovat ve všech situacích, kdy hrozí bezprostřední riziko předčasného porodu. Nástup plného účinku kortikoidů však lze očekávat až cca 24 hodin po dokončení celé kúry, jejich předpokládaný efekt však odeznívá přibližně 7 – 10 dní od podání. O podání druhé kúry kortikoidů je možné uvažovat, pokud k podání první kúry došlo před 14 dny a objeví-li se/přetrvává-li riziko předčasného porodu do sedmi dní. Nejpozději opakujeme druhou kúru kortikoidů do 31+6 týdne těhotenství [ 12, 334 ] . Kompenzovaný diabetes mellitus není kontraindikací k antenatálnímu podání kortikosteroidů, avšak je třeba počítat s nutností úpravy inzulinoterapie. I v případě chorioamnionitis, která je spojena se zvýšeným rizikem

periventrikulární leukomalacie (RR 2,6, 95 % CI 1,7–3,9 %) a dětské mozkové obrny (RR 1,9, 95 % CI 1,5–2,5 %), může být podání kortikosteroidů zahájeno [ 333 ]. Dostupné informace ukazují, že je podání jedné kúry kortikoidů bezpečné pro matku i plod. Dosud nebyly zaznamenány žádné negativní dopady na zdravotní stav matky či plodu. Nicméně v určitých případech je možné pozorovat snížení variability na kardiokografickém záznamu dva až tři dny po podání. Na straně matky můžeme též v krevním obraze pozorovat přechodný vzestup počtu neutrofilních granulocytů v diferenciálním rozpočtu – kortikoidy snižují jejich adheenci k cévní stěně. Naším cílem je aplikovat jednu kúru kortikoidů [ 12 ]. Přestože zatím nebyly spolehlivě potvrzeny zprávy o tom, že by opakování kúr steroidů prokazatelně zvýšilo riziko krátkodobé morbidit matky (chorionamnionitis, sepse) či dlouhodobé morbidit dětí (např. poruchy psychomotorického vývoje), autority se shodují na tom, že bychom se rutinnímu opakování kúr kortikoidů měli vyhnout [ 335 ].

#### *4.10.3 Neuroprotektce*

Předčasný porod, zvláště před 32. týdnem těhotenství, je spojen s významným rizikem neurologického postižení takto narozených dětí, tj. dětskou mozkovou obrnou ( DMO ). DMO se rozvíjí nejčastěji jako důsledek intraventrikulární hemorhagie a /nebo postižení bílé hmoty ( periventrikulární leukomalacie – PVL ) . Prevalence DMO se pohybuje od 2 až 2,5 případů na 1000 živě narozených dětí. U porodů před 28+0 je riziko DMO 30-80x vyšší ve srovnání s porody v termínu. DMO můžeme spolehlivě diagnostikovat až ve 2 letech života. Neexistuje účinná léčba. Péče o takto postižené děti představuje pro společnost obrovskou socioekonomickou zátěž. Zásadní je proto prevence. První zmínka o redukci rizika DMO po antenatálním podání magnesium sulfátu (  $MgSO_4$  ) pochází z roku 1995. Dnes je magnesium sulfát považován za účinnou prevenci DMO a je součástí řady doporučení [ 336, 337 ]. Mechanismus účinku magnesium sulfátu na CNS plodu není dosud přesně vysvětlen. Magnesium sulfát z indikace neuroprotektce užíváme v případě hrozícího předčasného porodu a to nejen v případě spontánního porodu, ale i v situacích, kdy je v plánu předčasný porod z mateřské nebo fetální indikace [ 338, 339, 340, 341, 342 ]. Podání magnesium sulfátu je indikováno u žen s hrozícím předčasným porodem mezi 24+0 až 31+6. Obvyklé dávkování představuje 4 g magnésium sulfátu jako bolus během 30 minut i.v., následováno infuzí rychlostí 1g/h i.v. Infuze je ukončena porodem. Maximální denní dávka magnesium sulfátu by měla být 8 g. Zatím nejsou k dispozici důkazy o vhodnosti opakovaného podání magnesium sulfátu jako neuroprotektce. Podání magnesium sulfátu jako neuroprotektce je kontraindikováno u žen

s myastenia gravis, u žen s AV blokádou a se závažným postižením funkce ledvin. Nejčastějším vedlejším účinkem u matky je hypotenze a tachykardie vyvolaná periferní vasodilatací. Vedlejší účinky jako je deprese dýchání a srdeční zástava jsou na dávce závislé a dostavují se obvykle při hladinách magnesia přesahujících 5 mmol/l. U žen s mírnou hypermagnezemií a s normální funkcí ledvin se hladina magnézia normalizuje po zastavení podání. U pacientek s útlumem dechového centra a změnami na EKG se doporučuje podat pomalý bolus 10 ml 10% kalcium glukonátu. Hladin nad 5mmol/l není při respektování kontraindikací v případě podání magnesium sulfátu jako neuroprotektice dosahováno. K vedlejším účinkům u novorozence patří hypotonie a apnoe [ 340 ]. Mezi autoritami zatím nepanuje shoda o tom, po jakou nejkratší a nejdelší dobu by měl být magnesium sulfát podáván. Většina se ale shoduje na tom, maximální oba podávání neměla být více jak 24 hodin [ 343, 344 ]. Hlavním důvodem časového omezení podávání je především obava z dlouhodobého nežádoucího vlivu na kostní metabolismus dětí, tj. osteopenii [ 345 ].

#### 4.10.4 Antibiotika

Antibiotika představují skupinu léčiv, jejichž využití provází management předčasného porodu již velmi dlouhou dobu. Autority vycházely z poznatku, že mikrobiální osídlení porodních cest ( i jiných kompartmentů lidského těla) je pravděpodobně nejen nejdůležitějším faktorem ovlivňujícím výskyt předčasného porodu, ale zároveň i činitelem, který zásadně ovlivňuje morbiditu a mortalitu dětí. Původně velmi nadějně zprávy však postupně nahradily ty, které nepotvrzovaly, že by rutinní podávání antibiotik snížilo nejen incidenci předčasného porodu, ale i komplikace na straně dětí [ 346 ]. Preventivní aplikace antibiotik všem ženám s předčasným porodem proto postupně nahradilo selektivní podávání v konkrétněji definovaných okruzích, jak uvádím dále. Podávání antibiotik v souvislosti s porodem se v České republice nyní řídí podle III. revize doporučeného postupu „Perinatální infekce a podávání antibiotik podle nových poznatků“, kde je popsána antibiotická strategie pro snížení incidence časných a pozdních novorozeneckých a mateřských infekcí [ 347 ]. Využití antibiotik u předčasného porodu lze rozdělit do tří základních okruhů. První zahrnuje profylaktické podávání antibiotik u žen s předčasným (i termínovým) porodem zaměřené na prevenci neonatálních streptokokových infekcí. *Streptococcus agalactiae*, patřící mezi streptokoky skupiny B (group B Streptococcus – GBS), patří mezi nejvýznamnější původce novorozeneckých meningitid, pneumonií a sepsí. Vyskytuje se jako přirozená součást vaginální mikroflory a stejně tak může být přítomen v rektu. Jakákoliv, byť i přechodná přítomnost tohoto



mikroba v těhotenství - v porodních, močových či trávicích cestách matky - je chápána jako kolonizace/infekce a těhotná je bez ohledu na případné pozdější negativní kultivace označena jako „GBS pozitivní“. Druhý okruh využití představuje podávání antibiotik u žen s předčasným předtermínovým odtokem plodové vody ( PPROM ) a třetí pak léčba intraamniálního zánětu. V kapitole o zásadách managementu předčasného porodu uvádím jednotlivé formy podávání antibiotik.

*Antibiotická profylaxe infekce streptokoky skupiny B (dále také GBS) u hrozícího předčasného porodu bez odtoku plodové vody*

Vychází z doporučeného postupu “Diagnostika a léčba streptokoků skupiny B v těhotenství a za porodu“ [ 348, 349 ]. Antibiotikem první volby je **penicilin G** i. v. iniciální dávce 5 milionů IU i.v., dále aplikujeme 2,5-3 mil IU v intervalu 4 hodin. Pokud žena neporodí do 8 hodin od iniciální dávky, doporučujeme prodloužit interval podání na 2,5 mil. IU každých 6 hodin do porodu plodu ( nebo do zjištění negativity screeningového vyšetření ). Jako alternativní antibiotikum můžeme použít **ampicilin** i. v. v iniciální dávce 2 g i.v., dále aplikujeme 1 g i.v. v intervalu 6 hodin až do porodu. Při alergii na penicilinová antibiotika u pacientek s nízkým rizikem anafylaxe či nevěrohodnou alergickou anamnézou volíme cefalosporiny 1. generace i. v. ( **cefazolin, cefalotin** ) v iniciální dávce 2 g i.v., dále pokračujeme v dávce 1 g v osmihodinovém intervalu až do porodu. Pokud mají pacientky vysoké riziko anafylaxe ( anafylaxe, respirační obtíže, urtika po podání penicilinu v anamnéze ) podáváme **klindamycin** intravenózně v iniciální dávce 900 mg i.v., dále pokračujeme v dávce 900 mg i.v. v intervalu 8 hodin až do porodu. Širokospektré antibiotikum **vankomycin** je vyhrazeno pro pacientky s vysokým rizikem anafylaxe a prokázanou rezistencí k jiným antibiotikům jako „rezervní ATB“, které podáváme v dávce 1 g i.v. v intervalu 12 hodin až do porodu. Streptokoky skupiny B (GBS) si v České republice zachovávají vynikající citlivost k základnímu penicilinu, který by měl být nadále v profylaxi preferován před ampicilinem. **Ampicilin** je v současnosti považován za odpovídající alternativu penicilinu v indikaci profylaxe GBS. Vyšší výskyt novorozeneckých infekcí vyvolaných rezistentními kmeny po aplikaci ampicilinu nebyl v epidemiologických studiích potvrzen. Jeho teoretickou nevýhodou je vyšší selekční tlak při širším spektru účinku. Bude-li v těhotenství GBS pozitivní kultivace moči, lze předpokládat i masivní kolonizaci rekta a pochvy, a proto podáváme perorálně antibiotika podle citlivosti ihned, navíc však bez ohledu na předchozí přelčení take posléze intrapartálně aplikujeme antibiotika podle výše uvedeného schématu. Antibiotickou léčbu ukončujeme s porodem plodu,

pouze při jasném klinickém nálezu infekce matky doporučujeme pokračovat v léčbě. GBS profylaxi aplikujeme až do výsledku kultivace odebrané při příjmu (48 hodin). Pokud je kultivace negativní, ATB léčbu ukončujeme, pokud je kultivace GBS pozitivní pokračujeme v léčbě 7 dní.

#### *Antibiotická profylaxe u hrozícího předčasného porodu s odtokem plodové vody (PPROM)*

Řídí se Doporučeným postupem „Současné názory na management odtoku plodové vody“ [ 348, 349, 350 ]. V profylaxi pre-, intra- a postpartální infekce u PPRM zahajujeme empirickou antibiotickou terapii, kterou následně upravujeme na cílenou podle výsledku kultivace z porodních cest, kterou odebíráme vždy před zahájením antibiotické terapie. Prepartální antibiotickou profylaxi GBS infekce, která se řídí samostatným standardem, je nutné při PPRM před 37<sup>+0</sup> týdnem těhotenství zahájit ihned. U pacientek bez známek klinické chorioamnionitidy není nutné přidávat další antibiotickou léčbu. Při znalosti výsledků kultivací je nutné přejít z empirické léčby na léčbu cílenou podle konkrétního kultivačního nálezu a citlivosti. Antibiotická profylaxe u PPRM je v pásmu těžké a extrémní nezralosti zaměřena nejen na GBS, ale i další patogeny, které mohou komplikovat poporodní vývoj dětí. Jednotlivá pracoviště i země zde využívají poněkud odlišná schémata aplikace, které mj. odráží aktuální mikrobiologicko-epidemiologickou situaci, rezistenci mikroorganismů na antibiotika atd. . Základní principem je však využívat antibiotika , popřípadě jejich kombinaci, s co nejúžším spektrem působení, abychom snížili selekční tlak na vývoj rezistentních kmenů. Pracoviště autora v těchto pásmech nezralosti u pacientek s PPRM podává místo výše uváděné penicilinové profylaxe GBS infekcí dvojkombinaci antibiotik ampicilin + gentamicin ve schématu, jak je uvedeno v následujícím textu. Délka a způsob empirické terapie závisí na strategii péče – jiná bude při volbě konzervativního přístupu a snaze o prodloužení těhotenství, jiná při indukci porodu či ukončení císařským řezem. Na cílenou antibiotickou terapii musíme přejít při známkách infekce po zjištění výsledku kultivačních vyšetření a citlivosti. Při konzervativním přístupu, nepřítomnosti děložní činnosti, negativitě ( negativizaci) infekčních parametrů je indikováno ukončení antibiotické terapie.

*Antibiotická terapie při pozitivních klinických a/nebo laboratorních známkách infekce (chorioamnionitis)*

Zahajujeme empirickou terapií - dvojkombinací antibiotik: ampicilin + gentamicin. **Ampicilin** podáváme v iniciální dávce 2 g i.v. a dále aplikujeme 1 g po 6 hodinách ve schématu shodném s peripartální profylaxí GBS (viz výše). **Gentamicin** podáváme v dávce 240 mg i.v. v intervalu 24 hodin. Při alergii na PNC volíme alternativní antibiotikum jako u profylaxe GBS [ 351 ]. V případě **klinické chorioamnionitidy** a syndromu systémové zánětové odpovědi organismu ( SIRS ) **matky** (onemocnění, která jsou léčitelná pouze porodem) , volíme antibiotika podle konzultace s antibiotickým centrem [ 352 ]. Pokud není konzultace možná, zahajujeme empirickou terapií - dvojkombinací **ampicilin a gentamicin** (schéma viz výše). Zahájenou empirickou terapii musíme ale ihned po zjištění výsledků kulturačních vyšetření a citlivosti ( tj. po 24-48 hodinách) upravit po konzultaci s antibiotickým centrem na terapii cílenou. V cílené léčbě se aplikuje účinné antibiotikum s co nejužším spektrem proti identifikovanému patogenu a podává se **vždy intravenózně**. Při podezření na **sepsi** v souvislosti s těhotenstvím volíme iniciální empirickou léčbu:

- **ampicilin** (2 g á 6 hod i.v.) + **gentamicin** (5mg/kg/den i.v.)\*\* + **amoxicilin/kyselina klavulanová** (1,2 g á 6 hod. i.v.)
- **ampicilin/sulbaktam** (1,5–3 g á 6 hod. i.v.)\* + **gentamicin** (5mg/kg/den i.v.)\*\*
- **piperacilin/tazobaktam** (4,5 g á 6 hod. i.v.) + **gentamicin** (5mg/kg/den i.v.)\*\*
- **meropenem** (1-2 g á 6 hod. i.v.)\* nebo **ertapenem** (1g á 24 hod. i.v., případně 1 g á 12 hod. po konzultaci s mikrobiologem)\*

\* *v závislosti na tělesné hmotnosti.*

\*\* *v případě potvrzené citlivosti bakteriálního původce sepse na beta-laktamové antibiotikum (amoxicilin/kyselina klavulanová, ampicilin / sulbaktam, piperacilin / tazobaktam) aplikaci gentamicinu ukončit, v případě pokračování podávání gentamicinu by jeho dávkování mělo vycházet z monitorovaných plazmatických koncentrací před a po podání*

V případě pozitivního záchytu atypických bakterií ( ureaplasma, mykoplasma ) je indikován **azitromycin** 500 mg i. v. v intervalu 24 hodin s celkovou dobou léčby 6 -7 dnů. Intrapartální antibiotická léčba významně snižuje časnou neonatální sepsi (RR 0.08; 95% CI 0.00-1.44). Při záchytu chlamydiové infekce je dostatečná jednorázová aplikace 1 g **azitromycinu** p. o. [ 347 ].

#### 4.10.5 Zásady managementu předčasného porodu se zachovalou plodovou vodou

Základní strategií našeho managementu je snaha prodloužit těhotenství. Skupina těhotných/rodiček, které se prezentují s příznaky či objektivními projevy předčasného porodu, je však značně nehomogenní. Proto je hlavním krokem v naší péči pokusit se definovat, zdali se jedná o zjevný probíhající spontánní předčasný porod nebo „pouze“ o hrozící předčasný porod. Zatímco pro první uvedený stav jsou charakteristické pravidelné kontrakce dělohy s objektivně patrnou dilatací děložního hrdla v krátkém časovém úseku, pro druhý jmenovaný platí, že bývá děložní činnost přítomna (ale bez rychlé progresse dilatace děložního hrdla v čase) a/nebo zjišťujeme krátké děložní hrdlo. V kapitole o klinickém obrazu předčasného porodu ale uvádím, že obě situace mohou být od sebe neostře odděleny. Při pochybnostech je zvyklé pacientky přijímat ke sledování a základnímu diagnosticko-terapeutickému algoritmu. Při přijetí odebíráme krevní obraz, biochemická vyšetření, včetně hladiny CRP, a základní koagulační vyšetření. Provádíme kultivaci z porodních cest, kdy je mj. důležitá informace o případné přítomnosti *Streptococcus agalactiae* a také sexuálně přenosných mikroorganismech. Provádíme kultivaci i se zaměřením na gonorrhoeu a chlamydie. Neméně významná je i kultivace moči, kde je přítomnost signifikantní bakteriurie důvodem k nasazení cílené antibiotické léčby. Provádíme vstupní kardiokografické vyšetření a ultrazvukové stanovení odhadu váhy plodu – fetální biometrii, stanovení lokalizace placenty, množství plodové vody. V případě nálezu fetální růstové restrikce (fetal growth restriction – fGR) ještě připojujeme stanovení dalších ukazatelů, které upřesňují stav zásobení plodu, tj. především dopplerovské vyšetření průtoku krve pupečnickovou arterií, vénou a arteria cerebri media. Hodnoty těchto parametrů mohou ukazovat na přítomnost případné centralizace oběhu plodu, kdy plod prezentuje tzv. „brain sparing effect“ a přednostně zásobuje životně důležité orgány, jako jsou mozek, srdce a nadledviny. Přítomnost fGR a známek distresu plodu by měla být kontraindikací tokolýzy. V případě zjevně probíhajícího spontánního předčasného porodu s progresí vaginálního nálezu v čase podáváme tokolytika a magnesiumsulfát a kortikoidy k indukci plicní zralosti, umožňuje-li to ještě klinická situace (nejedná-li se o překotně probíhající předčasný porod). Pokud se pacientka prezentuje pod obrazem hrozícího předčasného porodu, do 30. týdne provádíme měření děložního hrdla transvaginální ultrazvukovou cervikometrií. Při zjištění krátkého děložního hrdla (tj. pod 25 mm) doporučíme pacientce progesteron vaginálně. Můžeme využít stanovení biomarkerů, jejichž výčet je uveden v kapitole o diagnostice předčasného porodu. K dispozici jsou firemní kity na semikvantitativní stanovení PAMG-1, IGFBP-1 a fFN. Biomarkery stanovujeme pomocí stěru ze zadní klenby poševní, štetička je ponořena do

firemního pufru a poté je do něj vložen testovací proužek. Výsledky uvedených vyšetření interpretujeme jako negativní/pozitivní test. Naše pracoviště již řadu let využívá stanovení koncentrace fetálního fibronektinu jako „bedside testu“, kdy je úvodní část vyšetření shodná s provedením semikvantitativních testů. Ve druhé části je vyšetřovací štetička se vzorkem cervikovaginální tekutiny ponořena do firemního pufru a odtud je pipetou vzorek roztoku směřován na vyšetřovací kazetu. Ta je zasunuta do analyzáru a přibližně za 8 minut je tiskem k dispozici výsledek – koncentrace fetálního fibronektinu. Koncentrace 50 ng/mL je a nižší je interpretována jako negativní. Jak je uvedeno v kapitole Diagnostika předčasného porodu, kombinace transvaginální ultrazvukové cervikometrie a biomarkerů, především fFN, umožňuje zpřesnit informace o tom, kterým ženám s hrozícím předčasným porodem reálně hrozí riziko předčasného porodu v krátko- i dlouhodobém časovém horizontu. Negativní test na uvedené biomarkery ( především negativní výsledek kvantitativního stanovení fFN ) umožňuje zvážit ambulantní sledování pacientek, naopak pozitivní test může navést k rozhodnutí o podání tokolýzy a kortikoidů k indukci plicní zralosti plodu. V kapitole o prevenci předčasného porodu dále uvádím , jaké jsou možnosti u pacientek, které mají v anamnéze předčasný porod a/nebo druhotrimestrální potrat a v této graviditě přicházejí s obrazem byť asymptomatického krátké děložního hrdla. Kromě vaginálního progesteronu je možné nabídnout jim cerkláž, jak se zmíním dále. Stejně tak se setkáváme s pacientkami, které mohou mít v době dolní hranice viability náhodně zjištěné významné zkrácení a/nebo i dilataci děložního hrdla. Nezávisle na jejich anamnéze můžeme těmto pacientkám nabídnout tzv. záchranou cerkláž, o které pojednám v následujícím textu. V této i následující kapitole uvádím jen obecný přístup k péči, jak probíhá na našem pracovišti, nemá být přesným návodem jak postupovat. Každou klinickou situaci vždy posuzujeme přísně individuálně.

#### 4.10.6 Zásady managementu předčasného porodu s PPRM

Předčasný odtok plodové vody ( Preterm Premature Rupture of Membranes – PPRM ) je definován jako odtok plodové vody více jak jednu hodinu před začátkem porodu před 37.ukončeném týdnem těhotenství. Předmětem této kapitoly je management předčasného předtermínového odtoku plodové vody – PPRM v době, kdy je již odtok plodové vody objektivně prokázán. Po přijetí pacientky uplatňujeme podobný postup, jako u pacientek s předčasným porodem a kontrakcemi, tj.:

- Odběr krevního obrazu s diferenciálním rozpočtem krevního obrazu – KO+CRP a další základní laboratorní vyšetření, tj. biochemické a koagulační vyšetření
- Odběr kultur z porodních cest ( včetně ureaplasmat, mykoplasmat, chlamydií )
- Odběr kultivace z močových cest a chemické vyšetření moči
- Ultrazvukové hodnocení polohy, velikosti plodu, množství plodové vody , pohybové aktivity plodu a uložení placenty
- Vstupní kardiografické vyšetření při dosažení viability plodu.

Hlavním cílem managementu PPRM je, stejně jako u spontánního předčasného porodu se zachovalou plodovou vodou, prodloužení těhotenství. Historicky byly pacientky s PPRM směřovány k porodu po potvrzení odtoku plodové vody relativně časně, z obavy před ohrožením dětí i matek intraamniálně probíhajícím zánětem/infekcí. Podle dostupných aktuálních dat se jeví jako velmi pravděpodobné, že prognóza dítěte u pacientek s PPRM souvisí především s gestačním stářím, které dosáhne při porodu [ 353 ]. Pacientky s PPRM se dělí na ty, u nichž nejsou kontraindikace k časnému plánování porodu – zde volíme vyčkávací/konzervativní přístup a na ty, u nichž je naopak z důvodů známek ohrožení plodu a/nebo matky ( klinicky zjevný zánět/infekce, krvácení, distress plodu ) vhodné plánovat porod co nejčasněji dle daných podmínek – volíme aktivní přístup. Vyčkávací/konzervativní přístup má poměrně jasné kontraindikace pokračování a těmi jsou výše uvedené známky ohrožení plodu a/nebo matky. Jak ukazuje rozsáhlá metaanalýza, nebyl zjištěn klinicky významný rozdíl ve výskytu novorozenecké sepse mezi pacientkami s PPRM a aktivním přístupem a pacientkami s vyčkávacím/konzervativním přístupem . U pacientek vedených v aktivním přístupu autoři zaznamenali vyšší incidenci novorozenecké RDS, potřebu ventilace, novorozenecké úmrtnosti, endometritidy, přijetí do novorozenecké intenzivní péče a pravděpodobností narození císařským řezem, na druhou stranu nižší výskyt chorioamnionitidy

[ 353 ]. Uvedená metaanalýza však zatím neodpovídá na otázku, zdali jsou rozdíly mezi oběma přístupy v dlouhodobém časovém horizontu, především na straně dětí. Stávající údaje zatím naznačují, že čím vyšší dosažený týden těhotenství při porodu, tím nižší riziko krátkodobých komplikací na straně dětí. Nicméně v kapitole o patofyziologii předčasném porodu uvádím, jak zánětlivý proces a infekce ovlivňují nejen výskyt spontánního předčasného porodu/PPROM, ale i morbiditu dětí ( problematika FIRS ). Některá pracoviště ve světě i v České republice proto používají metody, které se pokoušejí identifikovat , často subklinicky probíhající, zánětlivý proces v pozadí spontánního předčasného porodu/PPROM. Nadále probíhá množství studií, které se zabývají využitím těchto metod detekující probíhající intraamniální zánětlivé změny/infekci. Dle těchto prací - při vyloučení zánětlivých změn a/nebo cílené léčbě intraamniální infekce - je možné podpořit vyčkávací/konzervativní přístup u pacientek s PPRM. Na druhou stranu, má být potvrzení intraamniálního zánětu různými metodami důvodem k změně vyčkávacího na aktivní přístup? Na tuto otázku zatím neumíme spolehlivě odpovědět. Dílčí práce ukazují , že krátkodobá morbidita dětí porozených na základě managementu PPRM využívajícího metody detekce intraamniálního zánětu je nižší než na základě managementu bez těchto metod [ 354 ]. Další práce se zabývaly hodnocením výsledků péče na straně dětí u pacientek s PPRM s konzervativním/vyčkávacím přístupem, kdy byla péče vedena bez metod pátrajících po přítomnosti subklinického intraamniálního zánětu. Výsledky těchto prací ukázaly, že prodlužování těhotenství po odtoku plodové vody s sebou nese vyšší riziko neonatálních komplikací [ 355, 356 ]. Na podkladě dosud provedených prací, které se problematikou zabývaly, si dovoluji říci, že zatím nevíme, jaký postup je optimální. Bude tedy stále potřeba hledat odpovědi na to, které pacientky s PPRM budou mít prospěch z prodlužování těhotenství a u kterých naopak časné plánování porodu, byť za cenu nezralosti dětí , s sebou může nést nižší riziko především dlouhodobé morbidity dětí. Většina pracovišť ve vyspělých zemích světa zatím uplatňuje u pacientek s PPRM vyčkávací/konzervativní přístup, s kontraindikacemi uvedenými níže. Pracoviště autora preferuje takový postup, jehož cílem je oddálení porodu co do nejvyšších týdnů těhotenství, bez využití metod ( aminocentézou, vaginálním odběrem ) detekující subklinicky probíhající záněť/infekci. Pokud jsou při prokázaném PPRM současně přítomny kontrakce, podáváme tokolytika s cílem oddálit porod po dobu aplikace kortikoidů, v případě absence kontrakcí tokolýzu nepodáváme. V individuálních případech u pacientek s PPRM bez zjevné děložní činnosti a současně bez známek ohrožení matky/plodu není aplikace kortikoidů bezprostředně po stanovení diagnózy nezbytná. Týká se především těhotných/rodiček v pásmu extrémní nezralosti a na hranici viability . Hlavním argumentem je snaha odložit jejich aplikaci až na

pozdější období, vědomi si omezené doby působení kortikoidů na indukci plicní zralosti. Naším cílem je aplikace jedné kúry kortikoidů, ideálně řádově dny před očekávaným porodem. Časování podávání kortikoidů je v těchto situacích komplikované, pokud to klinická situace umožňuje, domnívám se, že by tento přístup měl být vyhrazen jen pro perinatologická centra. Svědčí-li naopak klinický stav či další údaje o tom, že je možné po PPRM očekávat porod v řádu dní, je vhodné k výše uvedeným opatřením přidat aplikaci MgSO<sub>4</sub> i.v. pro jeho neuroprotektivní účinky. U pacientek s cerclage je vhodné steh odstranit. Pokud nejsou zjevné klinické či laboratorní známky ohrožení matky a/nebo plodu, preferujeme u pacientek s PPRM vyčkávací/konzervativní přístup. GBS pozitivita není kontraindikací ke konzervativnímu postupu. Dle platného doporučení ČGPS je vhodné plánovat po týdnu 34+0 podle daných podmínek. Při znalosti stavu intraamniálního prostředí s ohledem na přítomnost zánětu/infekce je možné na podkladě těchto výsledků individualizovat management a terapii těhotenství a odložit plánování porodu na pozdější období, nejpozději však na 36+6 týden těhotenství. Autority spíše nedoporučují vyčkávací přístup za touto hranicí z důvodů očekávaného vyššího rizika mateřských i neonatálních komplikací [ 357 ]. Projevy klinické chorioamnionitidy, hypoxie plodu nebo závažné vaginální krvácení (podezření na abrupci placenty), jsou však indikací k ukončení konzervativního/vyčkávacího přístupu a plánování porodu dle daných podmínek. Způsob ukončení těhotenství závisí na porodnickém nález, stavu těhotné a plodu. Při přijetí je u pacientek s PPRM indikované podání antibiotik, jak je uvedeno v kapitole *Antibiotická profylaxe u hrozícího předčasného porodu s odtokem plodové vody (PPROM)* [ 358 ]. Metaanalýza 22 studií zabývajících se PPRM a podáním antibiotik ve srovnání s placebem (nebo nepodáním antibiotik) ukázala, že ve skupině s antibiotiky byla zaznamenána významná redukce následujících událostí:

- Chorioamnionitis ( RR 0.66, 95% CI 0.46-0.96 )
- Oddálení porodu o 48 hodin ( RR 0.71, 95% CI 0.58-0.87 ) a 7 dní ( RR 0.79, 95% CI 0.71-0.89 )
- Novorozenecká infekce ( RR 0.67, 95% CI 0.52-0.85 ),
- Použití surfaktantu ( RR 0.83, 95% CI 0.72-0.96 ),
- Potřeba kyslíkové terapie ( RR 0.88, 95% CI 0.81-0.96 ), and
- Abnormální ultrazvukový nález na CNS u novorozence před propuštěním ( RR 0.81, 95% CI 0.68-0.98 )



Volba ideálního antibiotika je nicméně stále předmětem diskusí [ 350 ]. Pacientky s PPROM jsou dlouhodobě hospitalizovány, ambulantní sledování není obecně preferováno, zejména pro nepředvídatelné riziko krvácení ( abrupce placenty ), překotně probíhajícího porodu a hypoxie. Předmětem diskusí je i monitorování matky a plodu během konzervativního přístupu. Mezi zavedená opatření na většině pracovišť patří pravidelné hodnocení biometrie plodu a 2-3 týdny, množství plodové vody a nonstress testů ( kardiokografie) . Matky jsou sledovány stran případné přítomnosti zánětlivých komplikací, ale mezi autoritami není shoda o optimálním managementu. Na našem pracovišti je zvyklostí pravidelný monitoring CRP, byť jsme si vědomi kontroverzních souvislostí. Elevace CRP nemusí být spojena s přítomností intraamniálního zánětu/infekce, jeho negativní hodnoty je spolehlivě nevylučují. Negativní predikční hodnota i specificita hodnot CRP stran zánětu/infekce je však poměrně vysoká a domníváme se, že může umožnit vyčkávací/konzervativní přístup [ 359 ]. Zvláštní kapitolu představuje management PPROM před dosažením hranice viability. Předčasný odtok plodové vody před dosažením hranice viability s sebou samostatná rizika neonatální morbidit a mortality. Týká se přibližně 1 – 7 těhotných z tisíce. Etiologie bývá spontánní, podobně jako u jiných PPROM, relativně často se však setkáváme s iatrogenními důvody, jako jsou předchozí invazivní zákroky prenatální diagnostiky a terapie ( aminocentéza, fetální endoskopie). Setkáváme se s ním i v souvislosti s předchozí cerkláží [ 360 ]. Je zajímavé, že až cca 14% takových PPROM s sebou nese spontánní restituci, tj. plodová voda přestane odtékat a výsledek těhotenství je identický jako by k PPROM nedošlo [ 361 ]. Pro management těhotenství s PPROM před dosažením hranice viability je klíčová diskuse mezi porodníkem, neonatologem a těhotnou/rodičkou. Každá těhotná by měla být pečlivě seznámena s riziky, které tato situace s sebou nese na strany matky a na straně plodu/dítěte. Mateřská rizika zahrnují především výskyt choriomnionitis. Zánětlivý proces je považován za průvodní projev/příčinu PPROM a objektivně ho lze ( „ex post“ histologicky či např.pomocí aminocentézy ) prokázat u řádově desítek procent pacientek s previability či periviability PPROM [ 362 ]. Nicméně průběh je většinou subklinický a incidence závažných mateřských komplikací je poměrně nízká, sepse je popisována přibližně v 1-5% [ 363 ]. Dále je nutné pacientky poučit o rizicích abrupce placenty a s ní spojenou potřebou akutního císařského řezu z mateřské indikace . Riziko abrupce placenty nepřímě úměrně stoupá s týdny těhotenství pacientek s PPROM obecně [ 364 ]. Před dosažením viability může dojít k fetálnímu úmrtí či potratu, jedná přibližně o 25% těhotenství [ 365 ]. Pacientka musí být také poučena o řádově procentních rizicích abnormálně invazivní placenty a postpartální endometritis. Abnormálně invazivní placenta je relativně nově používaný termín zahrnující problematiku patologické invaze trofoblastu

[ 366 ]. Jak vyplývá ze zkušeností s touto problematikou na našem pracovišti, naprostá většina pacientek akceptuje mateřská rizika a zajímá se především o možné komplikace na straně plodu/dítěte. Podle všech dostupných poznatků by měla být pacientka seznámena především s rizikem plicní hypoplazie. Pravděpodobnou příčinou hypoplazie po previabilním PPRM je pokles hydrostatického tlaku v kanalikulárně se vyvíjejících se plicích. Pakliže nastává PPRM před dosažením viability, je riziko plicní hypoplazie přibližně 30%. Incidence plicní hypoplazie pak velmi rychle klesá, dochází-li k odtoku plodové vody po dosažení viability, vyskytuje spíše jen v promile případů [ 365] . Mezi dětmi s již přítomnou plicní hypoplazií je pak navzdory pokrokům v péči velmi vysoká mortalita – dosahuje řádově desítek procent . Bohužel, diagnózu plicní hypoplazie je možné stanovit až postnatálně [ 367 ]. Dlouhodobá přítomnost oligohydramnia s sebou nese i četné muskuloskeletární deformity, ale u naprosté většiny, mj. i díky možnostem postnatální fyzioterapie, dojde k restituci a nevyžadují chirurgickou intervenci [ 368 ]. Po seznámení pacientky s výše uvedenými riziky s ní diskutujeme další postup. Jen malé množství pacientek volí ukončení gravidity ve smyslu indukce abortu. Dle našich zkušeností se většina z nich rozhoduje pro pokračování těhotenství s tím, že preferujeme ambulantní sledování do dosažení hranice viability, tj. do 22+0 týdne těhotenství. Za touto hranicí již volíme hospitalizaci. Hlavním důvodem je především lepší možnost dohledu nad těhotenstvím a možnost rychlého zásahu neonatologa v případě často překotně probíhající porodu a intervence porodníka v případě mateřských komplikací (abrupte placenty). Management těhotenství s previabilním PPRM je v době potvrzení odtoku plodové vody závislý na více proměnných. V případě, že má pacientka zájem o pokračování těhotenství, jsou diagnostická opatření prakticky identická jako výše uvedená v kapitole managementu PPRM. Nicméně při negativních zánětlivých ukazatelích nepodáváme rutinně antibiotika, ani kortikoidy k indukci plicní zralosti či tokolýzu. Postupujeme ambulantně až k dosažení viability a poté je další péče vedena za hospitalizace. V souladu s dosavadními poznatky i zkušenosti našeho pracoviště, je cílem prodloužit těhotenství do vyšších týdnů, s limity již dříve uvedenými v kapitole o managementu PPRM.

#### *4.10.7 Zásady managementu předčasného porodu v šedé zóně*

S pokrokem v medicíně přicházejí snahy zlepšit péči v týdnech těhotenství na hranici životaschopnosti. Donedávna nebylo myslitelné, že by děti rozené v tomto období mohly mít nadějně vyhlídky nejen na vlastní přežití, ale i na kvalitní život. Týdny těhotenství v období hranice životaschopnosti dětí jsou nazývána šedou zónou (angl. grey/gray zone) . Jak je

uvedeno v kapitole o definici předčasného porodu, šedou zónou se rozumí období od 22+0 do 24+6 týdnů těhotenství. S přibývajícím týdny těhotenství nad šedou zónou stoupají šance na dobrou prognózu dětí a naopak, pod touto hranicí se autority shodují, že by neměla být záchrana dítěte aktivně nabízena [ 369 ]. První snahy změnit přístup k péči na hranici životaschopnosti se datují přibližně do let 2005 až 2007, kdy proběhlo několik odborných fór, diskutující tuto problematiku. Jednalo se o vícero multidisciplinárních seminářů - i se zapojením rodičů - s cílem pokusit se nastavit konsenzus v obtížné oblasti perinatální péče na hranici životaschopnosti. První setkání autorit v oboru vedla především k snaze lépe definovat tuto oblast a nastavit základní pravidla pro péči o matku a dítě [ 370, 371 ]. Od tohoto období pojem šedá zóna využívají jak porodníci pro označení týdnů těhotenství pacientek s bezprostředním rizikem předčasného porodu na hranici životaschopnosti plodu, tak neonatologové pro děti rozené v tomto období. Nicméně, především pro náročnost neonatologické péče, jsou pacientky ve vyspělých zemích soustřeďovány jen na některá vybraná centra nejvyšší perinatologické péče. V šedé zóně péče ještě více dbáme na mezioborovou diskusi, součástí perinatologického týmu jsou, kromě porodníka a neonatologa, také antesteziolog a klinický psycholog. Probíhá otevřená komunikace mezi perinatologickým týmem a rodiči, prováděná podporou rozhodování a empatií. Tento proces musí být transparentní, otevřený a čestný a musí používat nejaktuálnější data. Autority se shodují na tom, že i když by bylo možné dítě nezralé dítě narozené v šedé zóně léčit, je přijatelné nezačínat intenzivní péči ze strany neonatologa po odpovídajícím poradenství s rodiči [ 16 ]. Na straně porodníků platí stejné zásady předporodní péče, jaké jsou uvedeny v kapitole o managementu předčasného porodu s kontrakcemi a PPRM. S ohledem na výše uvedené, způsob vedení porodu však posuzujeme vždy individuálně po předchozí diskusi s rodiči. Rodiče by měli být vždy poučeni o významném riziku perinatální mortality a morbidity ( dle stávajících dat více než 50% riziko významné morbidity dítěte v období šedé zóny ), ale také o vyšší mateřské morbiditě a důsledcích císařského řezu na případné další těhotenství [ 372, 373, 374]. Významnou měrou přispěla k poznání problematiky švédská EXPRESS study ( Extremely Preterm Infant Study in Sweden). Jedním z hlavních organizátorů této studie byl pan prof. Karel Maršál českého původu. Hlavními cíli jeho studijní skupiny bylo zjistit, jak porodnická opatření ovlivňují výsledky péče o děti a jak vypadá mortalita a morbidita dětí na hranici viability. Z této studie vyšla celá řada publikací. V období tří let, od roku 2004 do roku 2007, byly shromážděny údaje o všech dětech narozených ve Švédsku před koncem 27. týdne těhotenství. Součástí databáze byly i informace o porodnické péči, mj. proběhl-li porod v perinatologickém centru, údaje o aplikaci tokolýzy a kortikoidů k indukci plicní zralosti plodu a způsobu vedení porodu. Do

studie bylo zahrnuto bylo celkem 1 011 těhotenství, z nichž se narodilo 707 živých dětí a 304 bylo mrtvě narozených. 91% živě narozených dětí vyžadovalo péči na jednotkách intenzivní péče o novorozence, 78% živě rozených přežilo do jednoho roku. Vysokou míru přežití dětí autoři přisuzovali aktivní péči o těhotnou ženu, intenzivní péči o novorozence a dobrým kojením dětí. Z živě rozených dětí mělo v novorozeneckém období jednu nebo více komplikací jen něco přes polovinu (55%). Komplikace v novorozeneckém období nemusí nutně znamenat trvalé postižení - s časem se může vyřešit mnoho problémů [ 375 ]. Relativně vysoká frekvence novorozeneckých problémů a naopak skutečnost, že některé komplikace mohou být patrné až v pozdějším věku dětí, však znamenají, že děti musí být sledovány po delší dobu. Dílčí výsledky z nedávné doby zatím ukazují, že ze sledované kohorty dětí nemá žádný nebo má lehký handicap 2/3 dětí [ 376 ]. Management péče v období šedé zóny je vždy mezioborový, ale první kontakt s pacientkou má vždy porodník. Proto je potřeba seznamovat kolegy s tím, že mezi nejvýznamnější zjištění vyplývající z EXPRESS study adresované porodníkům bylo, že výsledky na straně dětí byly prokazatelně lepší, pokud byla uplatněna čtyři antenatální opatření a to porod v perinatologickém centru ( případný transport pacientky „in utero“ ), podání kortikosteroidů matce k indukci zralosti plic plodu, podání tokolýzy a vedení porodu císařským řezem [ 377 ]. Posledním jmenovaným se rozumí mj. doporučení k vedení porodu císařským řezem při jiné poloze než poloze hlavičkou plodu. Stejně tak byly výsledky na straně dětí lepší, byla – li uplatněna ze strany neonatologů čtyři postnatální opatření a to podání surfaktantu novorozenci orotracheálně do dvou hodin porodu, neonatolog byl přítomen přímo na porodním sále, dítě bylo po porodu intubováno a byla možnost ho přijmout na novorozeneckou JIP [ 378, 379, 380 ]. Předpoklad autorů studie a současně vize je, aby tento aktivní přístup k pacientkám šedé zóny s sebou nesl co nejvyšší počet dětí s plným zdravím a pokud možno žádný závažný handicap do dospělosti [ 375 ]. Od doby, kdy byla ukončena tato studie již uplynula poměrně dlouhá doba a především na straně neonatologů se management péče o takto časně narozené děti dále měnil. Lze jen spekulativně očekávat ještě lepší výsledky než byly prezentovány v EXPRESS study. Pro porodníky a pro neonatology bude nadále představovat velkou výzvu. V další části habilitační práce uvedu konkrétní zkušenosti s touto problematikou na našem pracovišti [ 381 ].

#### **4.11 Prevence předčasného porodu**

**Primární prevence** ( tj. zcela předejít předčasnému porodu ) vzhledem ke složitosti patofyziologických mechanismů zatím neexistuje. Veškeré kroky v péči jsou v současné době

směřovány do oblasti sekundární prevence. **Sekundární prevenci** se rozumí soubor opatření, které mají snížit riziko předčasného porodu. Opatření sekundární prevence lze také rozdělit na prekoncepční a opatření v již probíhající prenatalní péči. Samostatnou kapitolu v oblasti sekundární prevence předčasného porodu představuje cerkláž děložního hrdla.

### *Prekoncepční opatření*

Základním opatřením v prekoncepční péči je ženy poučit o tzv. pozitivním plánování rodičovství. Jeho hlavním cílem je , pokud možno vyřadit vlivy, které by mohly mít negativní vliv na výsledek těhotenství. Mezi základní, potenciálně ovlivnitelné, rizikové faktory patří kouření, abusus alkoholu, malnutrice a nízký či vysoký body mass index před početím. Nejvýznamnější rizikový faktor představuje anamnéza předchozího předčasného porodu . Kromě vyřazení/omezení rizikových faktorů jsou nyní k dispozici potravinové doplňky, jejichž využití může snížit riziko předčasného porodu. Dle nejnovějších poznatků je vhodné ženám plánujícím početí doporučit podávání folátů, jejich užívání je spojeno nejen se snížením rizika rozštěpových vad neurální trubice , ale i nižším rizikem předčasného porodu v případě dlouhodobého prekoncepčního podávání a podávání po celou délku těhotenství [ 382, 383, 384 ]. Stejně tak bylo zjištěno, že podávání vitamínu D těhotným ženám prokazatelně snižuje riziko porodnických komplikací, včetně předčasného porodu [ 385, 386, 387 ]. Jak v případě folátů, tak i vitamínu D, zatím nejsou známy přesné mechanismy, jakým způsobem mohou tyto látky ovlivnit výskyt porodnických komplikací. V případě folátů se zatím nabízí vysvětlení, že je předčasný porod spojen s jejich nízkou hladinou v těhotenství a tak jejich doplnění může riziko této komplikace omezit [ 388 ]. Vitamín D je v souvislosti s porodnickými komplikacemi studován relativně krátkou dobu. Zatím jsou k dispozici rozporuplné údaje. Některé práce nespojují jeho nízké hladiny s předčasným porodem, některé naopak ano [ 389, 390, 391 ]. Nicméně je zajímavé, že aditivní podávání tohoto vitamínu může výsledek těhotenství příznivě ovlivnit . Možné vysvětlení nabízí fakt, že je působení vitamínu D ( 1,25-dihydroxyvitamínu D<sub>3</sub> ) zprostředkováno nukleárním receptorem vitamínu D (VDR) . VDR je ligandem aktivovaný transkripční faktor, který slouží k regulaci genové exprese [ 392 ]. Je mj. exprimován i T regulačními lymfocyty, které představují klíčovou buněčnou populaci v kontrole semialogenního plodu. Vitamín D tak můžeme považovat za imunomodulační molekulu, zatím však nejsou známy přesné souvislosti [ 393 ]. T regulační lymfocyty mj. také exprimují receptory pro foláty, konkrétně FR4 ( folic receptor 4 ) . Podání monoklonální

protilátky pro tomuto receptoru v experimentu na zvířatech snižuje počty T regulačních lymfocytů [ 394 ].

### *Prenatální péče – obecné zásady*

Prenatální péče o těhotné se liší dle anamnestických i aktuálních rizikových faktorů. Nejvýznamnější představuje anamnéza předčasného porodu a/nebo druhotrimestrálního potratu. V kapitole o patofyziologii předčasného porodu uvádím, že mezi nejvýraznější faktory ovlivňující výskyt předčasného porodu patří genitální a extragenitální infekce. Dosud však nebylo prokázáno, že by úprava narušeného vaginálního ekosystému ( infekce, dysmikrobie ) antibiotiky vedla ke snížení incidence předčasného porodu. Riziko předčasného porodu však stoupá s výskytem extragenitálních infekcí, mj. se závažností zánětlivého postižení peridotálních tkání [ 395 ]. Preventivní zubní vyšetření je v těhotenství jistě vhodné, vzhledem k očekávané vyšší kazivosti zubů. Na druhou stranu, metaanalýza studií zabývající se vztahem periodontitis a předčasného porodu nepotvrdila, že by - byť adekvátní - léčba zánětlivého onemocnění peridotálních tkání snížila riziko předčasného porodu [ 396 ]. Screening a léčba asymptomatické bakteriurie v těhotenství snižuje riziko pyelonefritidy i předčasného porodu , efektivní protokoly však nejsou v klinické praxi k dispozici. Zatím je možné pouze říci, že pokud dojde k náhodnému záchytu asymptomatické bakteriurie, dostupná data zatím svědčí ve prospěch léčby [ 49, 397 ].

### *Prenatální péče o ženy bez anamnézy předčasného porodu*

Metaanalýza prací v Cochranově databázi zatím neuvádí přesvědčivá data o přínosu rutinního skríningu délky děložního hrdla u žen s nízkým rizikem předčasného porodu (tj. bez výše uvedené anamnézy). Autoři analýzy nabádají k dalším studiím, které by lépe přínos vyhodnocovaly [ 398 ]. Jak je však uvedeno v kapitole o možnosti predikce předčasného porodu, dílčí práce ukazují, že by měření délky hrdla mezi 18-24.týdnem těhotenství u žen s nízkým rizikem, tj. bez anamnézy předčasného porodu, mohlo mít přínos v sekundární prevenci předčasného porodu [ 399 ]. Uvedené by mělo platit i pro vícečetné těhotenství [ 400 ] . Dle poslední metaanalýzy, vedené prof.Romerem, se jeví jako efektivní a racionální podávání progesteronu pacientkám s jednočetným těhotenstvím, které mají dle ultrazvukové cervikometrie zkrácení děložního hrdla pod 25 mm [ 401 ]. Stejná skupina totéž doporučuje i pacientkám s vícečetným těhotenství, kdy výsledky ukazují jak snížení incidence předčasného porodu, tak i neonatální mortality a morbidity [ 401 ] . Progesteron představuje klíčový hormon

pro stabilizaci myometria, inhibuje jeho kontraktilitu [ 403 ]. Působí přes svoje membránové a nukleární receptory. Přesný mechanismus, jakým aditivně podávaný progesteron působí v sekundární prevenci předčasného porodu, však dosud není plně objasněn. V kapitole o patofyziologii předčasného porodu také uvádím, že roli mohou hrát jeho imunomodulační a protizánětlivé vlastnosti [ 404, 405 ]. Pacientky, u kterých je pomocí transvagiální ultrazvukové cervikometrie naměřeno krátké děložní hrdlo, tj. méně než 25 mm před 30. ukončeným týdnem, by měly mít doporučený progesteron podávaný vaginálně – viz dále v následující kapitole [ 12 ].

### *Prenatální péče o ženy s anamnézou předčasného porodu*

Progesteron je nejvýznamnější nástroj v sekundární prevenci předčasného porodu. Zatímco u žen bez anamnézy předčasného porodu podáváme progesteron až při nálezů krátkého děložního hrdla, většina autorit se shoduje na tom, že by podávání progesteronu u žen s anamnézou předčasného porodu mělo být zahájeno po 16. týdnu těhotenství. Hlavním důvodem nasazení od této fáze těhotenství je vyšší riziko vývoje hypospadiie u plodů mužského pohlaví [ 406 ]. Po 16. týdnu těhotenství je již uzavření mužské močové trubice dokončeno [ 407 ]. Pacientky s anamnézou předchozího předčasného porodu před 34. týdnem by měly v aktuálním těhotenství podstoupit měření délky děložního hrdla transvaginální ultrazvukovou cervikometrií počínaje 16. týdnem těhotenství s následnými kontrolami po dvou až třech týdnech. V ČR je dispozici mikronizovaný progesteron ve formě 100 mg a nově i 200 mg vaginálních tablet či 8% vaginální gel s obsahem progesteronu 90 mg. Zkušenosti s druhým jmenovaným preparátem zatím nejsou dostatečné a aktuální data zatím nepřinášejí informaci o tom, že by byl přípravek prospěšný proti placebo v sekundární prevenci předčasného porodu. Přípravek testovaný v randomizovaných studiích v zahraničí, obsahující syntetický 17-alfa hydroxyprogesteron kaproát, není v ČR k dispozici. Vzhledem k vyšší biologické dostupnosti a nižší frekvenci nežádoucích účinků je doporučeno podávání progesteronu vaginálně, optimálně na noc. Většina autorit se u této formy podávání kloní k dávce 200 mg na noc (2 tbl vaginálně na noc) [ 408 ]. V praxi se můžeme setkat s tím, že řada kolegů doporučuje v těhotenství progesteron vaginálně i z jiných než výše uvedených důvodů. Níže uvádím, kdy je jeho podávání odůvodněno na základě dostupných dat a kdy naopak pro jeho aplikaci (zatím) žádná podpora není.

*Situace, kde je dle dostupných poznatků prokázána účinnost podávání progesteronu v sekundární prevenci předčasného porodu - souhrn*

- Anamnéza předchozího předčasného porodu – podávání od 16.týdne těhotenství.
- Zkrácení děložního hrdla v aktuálně probíhajícím jednočetném těhotenství.

*Situace, kde dle dostupných poznatků není zatím účinnost podávání progesteronu v prevenci předčasného porodu prokázána – souhrn*

- Pozitivní test na fetální fibronektin
- Předčasný předtermínový odtok plodové vody
- Hrozící předčasný porod při normální délce děložního hrdla
- Preventivní podávání progesteronu po vysazení tokolýzy při normální délce děložního hrdla
- Vícečetné těhotenství – rutinně, nezávisle na délce děložního hrdla
- Vrozené vady dělohy [ 409, 410, 411 ].

#### *Cerkláž děložního hrdla*

Cerkláží děložního hrdla se rozumí souborem technik, jejichž cílem je mechanicky uzavřít stehem děložní hrdlo stehem a omezit subklinický proces, který se nazývá předčasná remodelace děložního hrdla, zmiňují v kapitole o patofyziologii předčasného porodu [ 412 ]. V této kapitole se věnuji především transvaginální cerkláži prováděnou v těhotenství, na konci ale ještě zmíním techniky, jejichž cílem je uzavření istmu/hrdla dělohy transabdominální a laparoskopickou technikou prekoncepčně nebo v těhotenství. Cerkláž děložního hrdla prokazatelně snižuje riziko předčasného porodu a představuje tak relativně účinnou metodu sekundární prevence předčasného porodu, někdy může být i terapeutickým výkonem. Indikace k výkonu lze rozdělit do tří okruhů [ 413, 414 ].

*Cerkláž indikovaná na základě anamnézy (anamnestické údaje o předčasném porodu nebo pozdním potratu ve II. trimestru)*

Takto prováděná cerkláž je preventivním výkonem, který je možno provést mezi 12. a 14. týdnem těhotenství u asymptomatických žen s anamnézou tří a více předčasných porodů anebo těhotenských ztrát ve II. trimestru.



### *Cerkláž indikovaná na základě výsledku transvaginální cervikometrie ultrazvukem*

Jedná se o výkon, který se provádí u žen s anamnézou předčasného porodu či pozdního potratu ve II. trimestru, které mají současně krátké děložní hrdlo.

### *Záchranná („emergency“) cerkláž*

Tento druh výkonu je záchranným/terapeutickým výkonem při dilataci hrdla dělohy s prolabujícím vakem blan do pochvy. Ve srovnání s konzervativním/expektačním přístupem můžeme oddálit předčasný porod v průměru o 5 týdnů. Tento postup proto může snížit incidenci předčasného porodu před 34. týdnem těhotenství až na polovinu. Avšak dilatace děložního hrdla/branky větší než 4 cm a prolaps vaku blan před zevní branku je spojen s vysokým rizikem selhání výkonu. Šance na úspěch záchranné cerkláže může být vyšší, je-li vyloučen intraamniální zánět, např. odběrem plodové vody na stanovení cytokinů [ 415 ]. Autority se shodují na tom, že jak cerkláž indikovaná na základě ultrazvukového vyšetření, tak záchranná cerkláž, by se měly provádět jen do 24. ukončeného týdne. Ve vyšších týdnech již nepřináší prospěch pro snížení rizika předčasného porodu i morbiditu a mortalitu dětí [ 416, 417 ]. Recentní metaanalýza prací ukázala, že transvaginální cerkláž v těhotenství ( s výjimkou záchranné) má srovnatelné výsledky v sekundární prevenci předčasného porodu jako vaginálně podávaný progesteron [ 418 ]. V praxi jsou využívány různé operační techniky. Za nejrozšířenější je považována transvaginální cerclage podle McDonalda, jejímž základním principem je v krátké celkové anestezii, po zachycení děložního hrdla kleštěmi, naložení sumbukózního stehu na děložní hrdlo cirkulárně, pokud možno co nejdále od jeho zevní branky . Kromě této techniky lze ještě provést i vysokou transvaginální cerkláž podle Shirodkara, u níž je však již potřeba preparovat paracervikální prostor, sesunout močový měchýř a rektum a pokusit se naložit steh taktéž cirkulárně, ale přibližně v úrovni vnitřní branky děložního hrdla. Volba metody záleží mj. na zkušenosti daného pracoviště. Před cerkláží indikované na základě anamnézy je vhodné provést kombinovaný prvotrimestrální ultrazvukový a biochemický screening. Před cerkláží indikované na základě ultrazvuku je doporučeno provést ultrazvuk ve druhém trimestru k vyloučení strukturálních malformací plodu . Pro vícečetná těhotenství platí stejná opatření jako pro jednočetná, cerkláž je doporučena ve stejných indikacích [ 419 ]. Základní kontraindikace cerkláže představují děložní aktivita, klinické známky chorioamnionitidy, vaginální krvácení, PPRM, známky fetálního distresu a neviabilní plod ( mrtvý plod, vrozené vady plodu apod. ). V současné době neexistují důkazy, které by obhajovaly nutnost odebrání kultivace z pochvy před naložením stehu, proto záleží na zvyklostech pracoviště, zda před tímto výkonem provést mikrobiologické vyšetření moči

a pochvy. Infekce, zvláště pak bakteriální vaginóza, by měla být vždy včas léčena. Není doporučeno podávat peroperačně tokolyzu a ani antibiotika před porodem. Steh odstraňujeme obvykle mezi 36. až 37. ukončeným týdnem těhotenství [ 413 ]. Při plánovaném císařském řezu může být odstranění stehu odloženo až na den samotného výkonu. Při nástupu děložní činnosti je vhodné cerkláž odstranit, aby se snížilo riziko poranění hrdla dělohy. Cerkláž je vhodné odstranit i u těhotných s PPRM. Kromě transvaginálně prováděné cerkláže provádějí některé pracoviště ve světě ještě cerkláž transabdominálně a také laparoskopicky. V obou případech se jedná o naložení cirkulárního neresorbovatelného stehu do oblasti přechodu hrdla a istmu dělohy, tj. v místě předpokládané vnitřní branky děložního hrdla. Zastánci těchto přístupů argumentují tím, že je steh naložen ještě výše než při vaginálním výkonu a je zde nižší riziko „migrace“ stehu níže. Také proto je tento typ cerkláže nazýván cervikoistmický. Srovnáme-li oba přístupy, nese s sebou transabdominální a laparoskopický ( zde navíc nižší morbidita pacientek), ve srovnání s transvaginálně prováděnou cerkláží, zřetelně nižší výskyt porodů před 32. týdnem [ 420 ]. Přitom je možné volit provedení cervikoistmické cerkláže ještě prekoncepčně nebo v již probíhajícím těhotenství, zde však, pokud možno, nejpozději do 18.-24. týdne těhotenství. Podle dostupných dat se jeví provedení cerkláže prekoncepčně nejen bezpečnější stran možných komplikací během výkonu, ale i stran lepší šance na dosažení vyšších týdnů těhotenství [ 421 ]. Transabdominálně prováděnou cerkláž můžeme také nabídnout pacientkám při/po fertilitě šetřících operacích pro karcinom děložního hrdla jako výkon sekundární prevence předčasného porodu. Zde jistě v kombinaci s progesteronem vaginálně [ 422 ]. Transabdominálně a laparoskopicky provedená cerkláž vyžaduje porod císařským řezem a může být ponechána in situ.

## 5 Vlastní práce

### 5.1 Jak souvisí hladiny T regulačních lymfocytů v mateřské krvi s předčasným porodem a je možné změny jejich počtu využít k predikci spontánní prematurity?

Jak je již v předchozím textu mnohokrát skloňováno, předčasný porod představuje závažný problém, jehož incidenci se prozatím nedaří příliš snižovat [ 82 ]. Určitý počet žen přichází k přijetí s nevratným procesem, tj zjevným obrazem již probíhajícího spontánního předčasného porodu či předčasného odtoku plodové vody ( PROM ). Na druhou stranu, vysoké počty těhotných přicházejí s obrazem hrozícího předčasného porodu, tj. jednak s kontrakcemi bez zjevné progresse zkracování hrdla v čase a/nebo se zkrácením děložního hrdla. V takových případech očekáváme, že je šance na oddálení/zastavení procesu předčasného porodu. V době prvního kontaktu s těhotnou je velmi obtížné určit, jaké je reálné riziko předčasného porodu, přitom se jedná o klíčový krok stran možné hospitalizace, podání tokolytik a kortikoidů k indukci plicní zralosti plodu. Predikce předčasného porodu je předmětem mnoha studií. Přestože se na spuštění předčasného porodu podílí více příčin, je zánětlivý proces považován za hlavní patogenetický mechanismus stojící v jeho pozadí. Zánět provází i subklinické změny na úrovni myometria, plodových obalů i děložního hrdla. Běžně dostupnými metodami jsou tyto změny detekovatelné především v oblasti děložního hrdla – zánětlivý proces v něm provází předčasnou remodelaci ( zkracování a měknutí ) [ 90 ]. Proto již víme, že hodnocení délky děložního hrdla u žen s kontrakcemi i bez nich můžeme využívat k předpovědi rizika předčasného porodu pomocí vaginální ultrazvukové cervikometrie. V nekomplikovaném těhotenství by se délka děložního hrdla neměla měnit a mezi 20.-30.týdnem těhotenství by měla být stabilní, s mediánem hodnot kolem 33 - 35 mm do 28.ukončeného týdne těhotenství. Pojem krátké děložní hrdlo je definován jeho zkrácením pod 25 mm v uvedených týdnech těhotenství [ 287 ]. Až hodnoty pod 15 mm jsou však spojeny s významně vyšší pravděpodobností současně přítomného intraamniálního zánětu i předčasného porodu před 33.týdnem. Bezpečně 50% žen s hodnotami 15 mm a méně rodí předčasně před 32.týdnem [ 423, 424, 425 ]. Nicméně jak je z uvedených dat patrné, relativně vysoké procento těhotných s krátkým děložním hrdlem nakonec rodí v pozdějších týdnech těhotenství, nemalé počty i v termínu. Samotné zkrácení děložního hrdla tedy ještě nemusí být předobrazem spontánního předčasného porodu. V posledních několika letech je porucha tolerance plodu mateřskou imunitou nejvíce diskutovanou spouštěcí příčinou předčasného porodu. Úspěšné těhotenství je spojeno s adekvátní tolerancí semiallogenního plodu pomocí řady „nástrojů“, jako jsou adekvátní funkce imunních i neimunních buněčných populací, komplementu a hormonálních systémů

těhotné i plodu [ 426 ]. Tento proces však musí být zajištěn bez narušení imunity matky. Klíčovou buněčnou subpopulací zajišťující toleranci představují T regulační lymfocyty. Normální prosperita těhotenství je spojena s adekvátními počty těchto buněk v decidue [ 200 ]. I přechodný nedostatek T regulačních lymfocytů je spojen s „katastrofálními“ důsledky – vede k aktivaci fetálně specifické efektorové T lymfocytární odpovědi a ztrátě těhotenství [ 427 ]. Několik prací prokázalo, že jsou abnormální počty i funkce T regulačních lymfocytů spojeny se závažnými komplikacemi těhotenství jako jsou preeklampsie a potrat [ 200, 205 ]. Další práce zjistila významný jev, kdy relativní snížení počtu T regulačních lymfocytů ( procentuální snížení T regulačních lymfocytů z celkového počtu T lymfocytů ) předchází termínovému i předčasnému porodu, porovnáváme-li je s počty u těhotných v odpovídajících týdnech těhotenství bez projevů ( předčasného ) porodu [ 208 ]. Nejrecentnější údaje na uvedená zjištění navazují. Práce Gomez-Lopez poukazuje na významné snížení T regulačních lymfocytů v decidue u žen s předčasným porodem ve srovnání s jejich počty v decidue u žen rodících v termínu [ 428 ]. V současnosti je známa celá řada povrchových i intracelulárních znaků, které T regulační lymfocyty exprimují. Autority se však shodují na tom, že pro identifikaci cirkulujících přirozených nTreg ( natural T regulatory cells ) či indukovaných iTreg ( inducible T regulatory cells ) je klíčové zjištění povrchových markerů CD4 a CD25, absence CD 127 a přítomnosti intracelulárního transkripčního faktoru FoXP3 ( forkhead box P3 ) [ 429 ]. Předpokládáme, že již od úvodu těhotenství dochází k osídlení deciduy T regulačními lymfocyty, které zde exprimují celou řadu různých receptorů. Pro účely naší studie jsme mohli zvolit jen stanovení cirkulující subpopulace CD4+CD25+CD127-FoXP3+ T regulačních lymfocytů, kterou považujeme za součet populací iTreg a nTreg. Nicméně v době provedení studie jsme ještě neměli k dispozici monoklonální protilátky proti FoXP3 a tak byly stanovovány populace CD4+CD25+CD127-. Dále je nutné zmínit, že deciduální T regulační lymfocyty, pod vlivem celé řady faktorů, exprimují další odlišné znaky a jejich subpopulace nemusí odrážet počty cirkulujících T regulačních lymfocytů. Tato oblast ještě stále není dostatečně prostudována [ 430 ]. Dle dostupných znalostí zřejmé, že se dynamika hodnot T regulačních lymfocytů v těhotenství mění. Zatím nejsou známé žádné konkrétní „normální“ počty T regulačních lymfocytů před těhotenstvím u lidí, ale z myšího modelu vyplývá, že vrcholných hodnot dosahují přibližně v polovině těhotenství, s postupným trendem k poklesu směrem k termínovému porodu, kdy dosahují opět hodnot z období před těhotenstvím [ 431 ]. Náš tým byl také jedním prvních, který se pokusil popsat dynamiku jedné ze subpopulací T regulačních v průběhu těhotenství [ 432 ]. Před zahájením projektu jsme si položili si dvě základní otázky. První směřovala k potvrzení závěru výše uvedené citované práce Xiong et al.,

tj. předchází spontánnímu předčasnému porodu u žen rizikem, tj. s kontrakcemi a/nebo zkrácením hrdla, snížení počtu T regulačních lymfocytů v mateřské krvi? Pokud ano, je možné využít hodnocení počtu cirkulujících mateřských T regulačních lymfocytů u žen s hrozícím předčasným porodem k jeho predikci spolu se zavedenou metodou – ultrazvukovou cervikometrií? Práci, ve které jsme se problematice věnovali, přikládám v dalším textu v anglickém originálním znění, v této části uvedu stručně metodiku a hlavní výsledky. Jednalo se o prospektivní kohortovou studii, do které jsme zařadili 60 pacientek s jednočetným těhotenstvím v 24.-32.týdnech těhotenství s projevy hrozícího předčasného porodu, tj. kontrakcemi a/nebo krátkým děložním hrdlem. Projekt byl schválen Etickou komisí Všeobecné fakultní nemocnice a všechny pacientky podepsaly před vyšetřeními informovaný souhlas. U všech pacientek jsme kromě provedení ultrazvukového vyšetření děložního hrdla odebírali jednorázové krevní vzorky z kubitální žíly ke stanovení počtu T regulačních lymfocytů. Všechny pacientky s krátkým děložním hrdlem měly předepsaný progesteron vaginálně v dávce 200 mg vag.tbl na noc. Absolutní počty T regulačních lymfocytů ( CD4+CD25int/highCD127low ) byly hodnoceny pomocí průtokové cytometrie v laboratoři klinické imunologie, spadající pod Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky I.LF UK a Všeobecné fakultní nemocnice . U všech pacientek jsme zjišťovali , jak souvisí délka děložního hrdla a/nebo počty T regulačních lymfocytů s předčasným porodem do 48 hodin a do 34., resp.37.týdne od vyšetření. Výsledky byly získány standardní statistickou analýzou, jejíž podrobné znění je taktéž uvedeno v originálním znění článku. Za významný rozdíl byla považována statistická hladina významnosti  $p < 0,05$ . Medián délky děložního hrdla dle cervikometrie z celého souboru dosáhl hodnotu 17,5 mm a medián počtu T regulačních lymfocytů z celého souboru pak hodnotu  $0.031 \times 10^9$  . Z analýzy dat vyplynulo, že snížení hodnot T regulačních lymfocytů pod uvedený medián je spojeno s významně vyšším rizikem předčasného porodu, jak do 48 hodin od vyšetření, tak i před 34. a 37.týdnem těhotenství. Pacientky rodící nakonec v termínu měly v době vyšetření významně vyšší hodnoty T regulačních lymfocytů než pacientky, u nichž jsme po vyšetření s různými odstupy zaznamenávali spontánní předčasný porod. Dále jsme zjistili, že riziko předčasného porodu do 48 hodin od vyšetření je přibližně 35x vyšší u žen se současně sníženými hodnotami T regulačních lymfocytů a cervikometrie pod uvedenými mediány proti situaci, kdy jsou hodnoty obou těchto parametrů nad těmito mediány. Podobné výsledky jsme dosáhli i stran predikce předčasného porodu před 34.týdnem a 37.týdnem těhotenství. Dalším zajímavým výsledkem naší práce bylo zjištění, by počty T regulačních lymfocytů mohly být ovlivněny podáváním progesteronu. Byť se jednalo „jen“ o nesignifikační trend k vyšším hodnotám T regulačních

lymfocytů u žen užívající progesteron proti skupině žen bez progesteronu, naše práce byla první, která na uvedenou souvislost „in vivo“ poukázala. [ 502 ]. Uvedené souvislosti do té doby zatím žádná vědecká práce nepublikovala. Naše práce byla posléze citována dalšími autory, které již významnou souvislost mezi užíváním progesteronu a T regulačních lymfocytů shledali [ 433 ].

### **Publikace :**

Koucký M, Malíčková K, Cindrová-Davies T, Germanová A, Pařízek A, Kalousová M, Hájek Z, Zima T. Low levels of circulating T-regulatory lymphocytes and short cervical length are associated with preterm labor. *J Reprod Immunol.* 2014 Dec;106:110-7. doi: 10.1016/j.jri.2014.04.001.

Kopřivová H, Hájková M, Koucký M, Malíčková K, Holáň V, Krulová M. Kinetics of Helios(+) and Helios(-) T regulatory cell subsets in the circulation of healthy pregnant women. *Scand J Immunol.* 2019 Apr;89(4):e12754. doi: 10.1111/sji.12754.

## 5.2 Snižuje vaginálně podávaný progesteron riziko předčasného porodu a současně i kolonizaci porodních *Ureaplasma urealyticum*?

Není pochyb o tom, že podání progesteronu definované skupině těhotných snižuje riziko předčasného porodu, ale i neonatální morbiditu a mortality [ 406, 434, 435 ]. Sekce perinatální medicíny České gynekologicko-porodnické společnosti byla jednou z prvních odborných společností na světě, která začlenila do svých doporučení podávání progesteronu těhotným s anamnézou předčasného porodu a/nebo druhotrimestrálního potratu a těhotným s krátkým děložním hrdlem [ 12 ]. Úloha progesteronu v sekundární prevenci předčasného porodu je studována již poměrně dlouho. Předčasný porod chápeme jako chronický zánětlivý proces a tak jsou v současnosti nejvíce diskutovány imunomodulační a protizánětlivé vlastnosti progesteronu . V literatuře se nejčastěji skloňuje jeho imunomodulační působení via PIBF ( progesterone-induced blocking factor - PIBF ) , inhibice uvolňování arachidonové kyseliny, inhibice aktivity NK buněk, modifikace hladiny cytokinů, regulace počtu FoxP3 T regulačních lymfocytů, regulace exprese VDR (vitamine D receptor ) na T buňkách, příznivé ovlivnění stárnutí buněk ( cell ageing) via PGRMC1 ( progesterone receptor membrane component 1 ) [ 186, 436, 437, 438, 439 ]. Na druhou stranu, vztah užívání progesteronu k neonatální morbiditě a mortalitě je zkoumán málo. Nejvíce zvažovaná souvislost je ta nepřímá – podání progesteronu těhotným prokazatelně prodlužuje těhotenství. Čím vyšší dosažený týden porodu dítěte, tím nižší riziko neonatální morbiditu a mortality. Nás ale zajímalo, zdali není možné zvažovat ještě jiné cesty, kterými by se progesteron mohl podílet na snížení rizika novorozeneckých komplikací. Za nejvýznamnější spouštěcí příčinu spontánního předčasného porodu považujeme infekci. Aktuální data ale spíše naznačují, že samy mikroorganismy nemusí být samy zodpovědné za patologický výstup těhotenství, záleží pravděpodobně na jejich interakci s imunitním systémem matky a plodu. Kolonizace porodních cest matky některými kmeny mikroorganismů je poměrně častá. *Streptococcus agalactiae* nalézáme v porodních cestách např. až u 33-40% těhotných, *Ureaplasma urealyticum* dle různých literárních zdrojů 50 – 80% těhotných apod. Přitom incidence předčasného porodu se jeví výrazně nižší – do cca 10% ve vyspělých zemích. Léčba antibiotiky nejen že nevede k eradikaci výše uvedených mikroorganismů, ale ani nesnižuje riziko předčasného porodu [ 440, 441, 442 ]. Na základě těchto informací považujeme přítomnost tohoto mikroba v porodních cestách u žen s projevy hrozícího předčasného porodu se zachovalou plodovou vodou za kolonizaci ( a nikoliv infekci ) a k rutinní léčbě přítomnosti asymptomatické bakteriální kolonizace nepřistupujeme. Podrobněji jsem se problematice již věnoval v kapitole o shrnutí problematiky patofyziologie a

managementu předčasného porodu . Z našich dosud nepublikovaných zkušeností s péčí o ženy s předčasným porodem vyplynulo, že při dlouhodobém užívání progesteronu pozorujeme u těhotných/rodiček nápadně málo častou kolonizaci atypickými mikroorganismy – především právě *Ureaplasma urealyticum*. Antibiotiky se nedaří kolonizaci porodních cest mj. tímto mikroblem ovlivnit. Fucron et al. uvádí na myším modelu protizánětlivé působení progesteronu na materno-fetálním rozhraní a jeho „ochranný“ vliv proti endotoxiny navozenému předčasnému porodu [ 443 ] . Další práce uvádí, že progesteron zvyšuje rezistenci endocervikálních buněk proti působení jiného atypického mikroba – *Chlamydia trachomatis* [ 444, 445 ]. Rozhodli jsme se proto naplánovat prospektivní studii, ve které bylo hlavním cílem zjistit, zdali podání progesteronu snižuje výskyt *Ureaplasma urealyticum* v porodních cestách matky. *Ureaplasma urealyticum* jsme do naší studie zvolili proto, protože patří mezi nejvíce diskutované mikroby ovlivňující neonatální morbiditu. Jeho přítomnost v porodních cestách v předčasně rodících žen je spojena s vyšším rizikem bronchopulmonální dysplazie, intraventrikulární hemorrhagie a nekrotizující enterokolitidy novorozenců [ 446 ]. Druhým cílem bylo potvrzení stávajících znalostí - podání progesteronu snižuje riziko předčasného porodu. Jednalo se o prospektivní kohortovou studii, která zahrnovala 63 žen hospitalizovaných na Gynekologicko-porodnické klinice 1.LF UK s projevy hrozícího předčasného porodu, tj. pravidelnými kontrakcemi a/nebo krátkým hrdlem, 24.-31.týden, jednočetné těhotenství. U všech pacientek jsme při přijetí provedli mj. stěr na přítomnost *Ureaplasma urealyticum* ( pomocí PCR stanovení antigenů – polymerase chain reaction ). Žádná s pacientek nebyla před nebo přijetí léčena pro přítomnost tohoto mikroba antibiotiky. 44 pacientek ze souboru mělo předepsáno progesteron 2x 100 mg vaginální tbl na noc, do studie byly zařazeny pacientky pouze s více jak 5-denním užíváním. Indikací k jeho nasazení byla anamnéza předčasného porodu a/nebo krátké děložní hrdlo. Užívání progesteronu pokračovalo nadále po přijetí až do porodu. Pokud ženy neporodily dříve, byl vysazen v 36.týdnu těhotenství. U všech pacientek jsme evidovali, v jakém týdnu nastal porod a jaký byl vztah mezi užíváním progesteronu a výskytem *Ureaplasma urealyticum* v porodních cestách. Výsledky byly získány standardní statistickou analýzou, jejíž podrobné znění je uvedeno originálním znění článku. Za významný rozdíl byla považována statistická hladina významnosti  $p < 0,05$ . Pacientky jsme rozdělili do 4 podskupin, na základě positivity/negativity *Ureaplasma urealyticum* a podávání/nepodávání progesteronu. Nejvyšší výskyt předčasného porodu byl ve skupině žen bez léčby progesteronem a současnou pozitivitou *Ureaplasma urealyticum*, nejnižší pak v podskupině léčených progesteronem s negativní kultivací *Ureaplasma urealyticum*. Procento pacientek léčených progesteronem se významně nelišilo mezi skupinou



těhotných, které byli *Ureaplasma urealyticum* - pozitivní a *Ureaplasma urealyticum* - negativní (58,3% vs. 76,9%,  $p = 0,07$ ). Analyzovali jsme tedy, jak souvisí délka podávání progesteronu s pozitivitou/negativitou osídlení *Ureaplasma urealyticum*. Výsledkem bylo zjištění, že délka podávací kolonizaci ovlivňuje. Dlouhodobé podávání progesteronu bylo bezprostředně spojeno s méně častou kolonizací cervikovaginálního systému *Ureaplasma urealyticum* během těhotenství. Tento výsledek byl statisticky významný ( $p = 0,013$ ). Provedli jsme multivariační regresní analýzu pro testování rizikových faktorů pro předčasný porod ve vztahu k léčbě progesteronem a kolonizaci *Ureaplasma urealyticum*. Absence podávání progesteronu ( $p = 0,01$ ) a kolonizace *U. urealyticum* ( $p = 0,009$ ) byly v naší kohortě identifikovány jako rizikové faktory předčasného porodu. Nejvyšší riziko předčasného porodu bylo zjištěno u těhotných, které nebyly léčeny progesteronem a současně měly pozitivní kultivaci *Ureaplasma urealyticum* (OR 3,34,  $p = 0,008$ ) [ 503].

#### **Publikace:**

Koucký M, Malíčková K, Cindrová-Davies T, Smíšek J, Vráblíková H, Černý A, Šimják P, Slováčková M, Pařízek A, Zima T. Prolonged progesterone administration is associated with less frequent cervicovaginal colonization by *Ureaplasma urealyticum* during pregnancy - Results of a pilot study. *J Reprod Immunol.* 2016 Aug;116:35-41. doi: 10.1016/j.jri.2016.04.285.

### **5.3 Mohou snížené hladiny vybrané složky vrozené imunity mannose-binding lectinu ( MBL ) v průběhu těhotenství i mimo něj souviset s rizikem nepříznivých výsledků těhotenství, především předčasného porodu a nízké porodní váhy novorozenců?**

Chronický zánětlivý proces je hlavním patogenetickým mechanismem spontánního předčasného porodu. Příčinné souvislosti však neustále hledáme. Infekce je nadále považována za nejvýznamnější faktor iniciující předčasný porod [ 90 ]. Také u dalších významných patologických stavů těhotenství, jako jsou opakované potrácení či nevysvětlitelné fetální úmrtí, je diskutováno jejich zánětlivé pozadí. Podrobněji však zatím nejsou prozkoumány [ 447, 448 ]. Stále více je zřejmé, že se na rozvoji procesů vedoucích k předčasnému porodu nepodílejí jen samotné mikroorganismy, ale zásadní roli bude hrát jejich interakce s imunitou matky i plodu [ 264 ].

Systém komplementu představuje „pateř“ vrozeného imunitního systému. Zvyšuje schopnost protilátek a fagocytárních buněk odstranit mikroby a poškozené buňky z organismu. Zapojuje se do mnoha rozmanitých procesů zahrnující antimikrobiální obranu, komplexní imunitní pochody i regenerace tkání. Komplement zahrnuje více jak 50 proteinů, které se aktivují prostřednictvím amplifikující kaskády proteázových štěpení. Konečným výsledkem kaskády aktivace komplementu je stimulace fagocytů, která vede k likvidaci patogenních mikroorganismů a cizích/nádorových buněk prostřednictvím opsonizace, chemotaxe, zánětu, buněčné lýzy, aktivace koagulace a produkce protilátek. Komplement může být aktivován třemi různými cestami. Klasická cesta, kterou spouští protilátka nebo přímá vazba složky komplementu C1q na povrch patogenu, alternativní cesta, která je zahájena přímo vazbou C3b složky komplementu na povrch patogenů. Třetí dráhu komplementu představuje lektinová, která je spuštěna vazbou mannosu-binding lectinu (MBL) na bakterii, ale např. i poškozené buňky [ 449 ].

MBL představuje solubilní oligomerní protein, řadí se mezi collectiny. Hlavní funkcí collectinů, mezi něž patří ještě další proteiny ( SP-A = surfactant protein A, SP-D = surfactant protein D, CL-L1 = collectin liver 1, CL-P1 = collectin placenta 1, CL-43 = conglutinin collectin 43 kDa, CL-46 = collectin 46 kDa, CL-K1 = collectin kidney 1 a Conglutinin ), je vazba oligosacharidových či lipidových struktur mikroorganismů nebo poškozených buněk [ 450 ]. Collectiny, včetně MBL, se tak řadí mezi PRRs ( mezi pattern recognition receptor ). Podobně jako jiné collectiny, má MBL svoji přímou aktivační ( lektinovou ) dráhu, která začíná jeho vazbou sacharidové struktury mikroorganismů/poškozených/apoptotických buněk [ 451 ].

MBL tvoří v séru komplex se sérovými proteázami MASP (Mannose-binding lectin-Associated Serine Protease – MASP1,

MASP2, MASP3) a ty jsou po navázání na sacharidové struktury aktivovány, což vede ke štěpení dalších složek komplementu. Podobně jako u jiných komplementových drah, uvedené směřuje k formaci membrane-attack komplexu (MAC) s následnou lýzou patogenů, apoptotických či poškozených buněk [452]. Obecně víme, že mají lidé s deficitem různých složek imunity, zde konkrétně MBL, vyšší pravděpodobnost různých druhů infekcí. MBL je syntetizován celou řadou buněk, především hepatocyty, makrofágy i fibroblasty [449]. Gen pro MBL (MBL2) leží na chromozomu 10. Sérové koncentrace MBL jsou ovlivněny strukturálními mutacemi exonu 1 a nukleotidovými substitucemi v promotorové oblasti MBL2 genu. Uvedené změny mohou vést k nízkým sérovým hladinám a ty jsou dle různých prací spojeny s vyšší incidencí infekcí dýchacích cest u dětí, zvýšenou závažností symptomů u pacientů s lupus erythematoses a zvýšeným rizikem invazivních pneumokokových infekcí [453, 454, 455]. Několik dosavadních studií ukázalo, že hladiny MBL mohou hrát roli během těhotenství. Během něj se hladiny MBL postupně zvyšují a následně klesají po porodu [456]. Některé práce souvislost nízkých mateřských hladin MBL s patologickými stavy v těhotenství, jakou jsou např. opakovaný potrat či předčasný porod, prokázaly, některé naopak vztah nepotvrdily [457, 458, 459]. Dosud se žádná práce nezabývala hodnocením hladin MBL mimo období těhotenství a s tím souvisejícími patologiemi těhotenství. Naše pracoviště soustřeďuje velké množství pacientek, které mají anamnézu významných těhotenských komplikací jako jsou nevysvětlitelné fetální úmrtí, předčasný porod nebo opakované potrácení. Takovým pacientkám nabízíme před dalším početím prekoncepční konzultaci s tím, že součástí je i imunologické vyšetření zahrnující mj. vyšetření vrozené a získané imunity, včetně hladin MBL. Jsme si vědomi toho, že mutace/polymorfismy MBL2 genu mohou být spojeny s velmi různorodými hladinami MBL jak v těhotenství, tak mimo něj. Až 30% jinak zdravých lidí může mít snížení hladin MBL na podkladě výše uvedených změn MBL2 genu, nicméně sérové koncentrace MBL 100 ng/mL se týkají přibližně jen 5% populace. Takové snížení je již považováno za závažné [460]. Neadekvátní funkce vrozené (i získané) složky imunity ve vztahu k předčasnému porodu i jiným patologickým výstupům těhotenství je stále více skloňována. Komplementový systém tvoří jeden z pilířů vrozené imunity. Do našich studií jsme vybrali MBL s tím, že (spolu s ficoliny apod.) patří mezi významné molekuly schopné vázat mikroorganismy, což vede k aktivaci lektinové dráhy komplementu. Prvním naším cílem bylo proto zjistit, jak souvisí mateřské sérové koncentrace MBL s předčasným porodem. Dalším cílem bylo ověřit, zdali nízké hladiny MBL mimo období těhotenství s sebou mohou nést vyšší riziko vybraných těhotenských komplikací jako jsou předčasný porod, opakované potrácení či nevysvětlitelného fetálního úmrtí. Náš projekt byl proto rozdělen na dvě části. Do

první studie jsme zahrnuli 60 pacientek s hrozícím předčasným porodem ( kontrakcemi a/nebo krátkým hrdlem ) od 24.do 32.týdne těhotenství a 20 těhotných – kontrol - v odpovídajících týdnech těhotenství , které nakonec rodily v termínu. Všechny pacientky měly jednočetné těhotenství. U všech žen v souboru jsme provedli jednorázový odběr krve na hladiny MBL. Hlavními výstupy byla evidence doby porodu, tj. předčasný porod vs. termínový porod, porodní váhy dětí a přítomnost zánětlivých projevů na úrovni placenty a pupečníku ( choriomnionitis/funisitis ). MBL byl měřen pomocí firemního ELISA kitu dle instrukcí výrobce a výsledky uvedeny v ng/mL. Provedli jsme standardní statistickou analýzu, za významný rozdíl byla považována statistická hladina významnosti  $p < 0,05$ . Hladiny MBL byly statisticky významně snižené ve skupině žen s hrozícím předčasným porodem proti kontrolní skupině těhotných ( 582.5 ng/mL vs 884 ng/mL;  $p = 0.039$  ) Dále jsme prokázali, že přítomnost závažného snížení MBL ( méně jak 100 ng/mL) je považováno za velmi významný rizikový faktor přítomnosti chorioamnionitis/funisitis (  $p < 0.0001$  ) a nízké porodní váhy dětí (  $p < 0.0001$  ) [ 504 ] . Druhá studie se zabývala vztahem koncentrace MBL měřené před plánovaným početím u žen s anamnézou vybraných komplikací těhotenství. Do studie jsme vybrali 98 pacientek s anamnézou předčasného porodu (  $n = 29$  ) , opakovaného potrácení (  $n = 19$  ) a nevysvětlitelného fetálního úmrtí (  $n = 17$  ). Kontrolní skupinu tvořily ženy s anamnézou nekomplikovaných těhotenství s termínovým porodem (  $n = 33$  ) . Odběr krve jsme prováděli s odstupem 3 – 6 měsíců po předchozím těhotenství, jak již bylo řečeno, v rámci konzultací před dalším plánovaným početím. Tento interval jsme zvolili proto, aby nebyly výsledky ovlivněny předchozím těhotenství, dle literárních údajů je považován za dostatečný [ 462 ] . Opakovaným potrácením se v naší práci rozuměly dva a více potraty. Jsme si vědomi kontroverzních definic této diagnózy, kdy se odborná společnost britská, německá, rakouská a švýcarská kloní k počtu tři a více potratů, zatímco americká definuje opakované potrácení jako dva a více potratů, s vyloučením tzv. biochemických gravidit ( kdy ještě není zobrazeno těhotenství na ultrazvuku ) [ 463, 464, 465 ] . Naše výzkumná skupina se kloní k definici dva a více potratů mj. proto, že dle dostupných znalostí je pravděpodobnost patologického nálezu, dle různých vyšetření, podobná u žen s dvěma, třemi i více potraty v anamnéze [ 466 ] . Hlavním cílem této práce bylo zjistit, zdali hladiny MBL a funkční aktivita lektinové dráhy komplementu zjištěné mimo období těhotenství mohou souviset s výskytem vybraných patologických stavů v těhotenství. Kromě prostého hodnocení koncentrací MBL jsme dále posuzovali funkční aktivitu lektinové dráhy komplementu. V souvislosti s četnými mutacemi/polymorfismy MBL2 genu jsou produkovány různé strukturální varianty MBL proteinu. Zatímco polymorfismy genů vedou k prostému snížení hladin MBL, mutace MBL2 genu s sebou nesou

nestabilní protein, odlišnou afinitu k ligandům a nízkou schopnost iniciovat lektinovou dráhu komplementu. Prosté vyšetření hladin tak MBL nemusí odrážet jeho funkci [ 467 ]. Z tohoto důvodu jsme funkční vyšetření lektinové dráhy komplementu do naší studie zahrnuli. Funkční vyšetření lektinové dráhy komplementu je mj. závislé i na aktivitě MASP i dalších složkách komplementu. Pacientkám byl odebrán jednorázový vzorek krve na vyhodnocení hladin MBL a funkční vyšetření komplementu. Obě vyšetření proběhla pomocí standardizovaných kitů dle instrukcí výrobce. Hladiny MBL jsou uvedeny v ng/mL a funkční vyšetření lektinové dráhy komplementu v % aktivity. Aktivita lektinové dráhy komplementu mezi 10 až 100% je považována za fyziologickou [ 468 ]. Provedli jsme standardní statistickou analýzu, za významný rozdíl byla považována statistická hladina významnosti  $p < 0,05$ . Vyšetření všech vzorků ukázalo, že pacientky s anamnézou nekomplikovaných těhotenství a porodem v termínu mají statisticky významně vyšší hladiny MBL i funkční aktivitu lektinové dráhy komplementu než ženy s anamnézou předčasného porodu, opakovaného potrácení a nevysvětlitelného fetálního úmrtí. Dále jsme rozdělili každou ze tří skupin patologií těhotenství i kontrolní skupinou do dvou podskupin na základě funkční aktivity lektinové dráhy komplementu ( 10% aktivity jako cut-off, normální aktivita lektinové dráhy = 10% - 100% nebo patologicky snížená aktivita lektinové dráhy = méně než 10% aktivity). Ve skupinách žen s anamnézou předčasného porodu, opakovaného potrácení či nevysvětlitelného fetálním úmrtí bylo bezmála 40 - 50% žen s patologicky sníženou funkční aktivitou lektinové dráhy komplementu pod 10% se srovnání se skupinou žen s anamnézou termínového porodu, kde mělo přibližně 15% žen patologicky sníženou funkční aktivitou lektinové dráhy komplementu pod 10%. Výsledky však nedosáhly statistické významnosti, za hlavní důvod považujeme především relativně malý počet pacientek. Podrobněji odkazují na příložené publikace v originálním znění [ 505 ].

## **Publikace**

Koucký M, Malíčková K, Kopřivová H, Cindrová-Davies T, Hrbáčková H, Černý A, Šimják P, Pařízek A, Zima T. Low maternal serum concentrations of mannose-binding lectin are associated with the risk of shorter duration of pregnancy and lower birthweight. *Scand J Immunol.* 2018 Jul;88(1):e12675. doi: 10.1111/sji.12675

Koucký M, Malíčková K, Kopřivová H, Cindrová-Davies T, Čapek V, Pařízek A. Serum mannose-binding lectin (MBL) concentrations are reduced in non-pregnant women with previous adverse pregnancy outcomes. *Scand J Immunol.* 2020 Jul;92(1):e12892. doi: 10.1111/sji.12892.

#### **5.4 Jak ovlivňují porodnické postupy v péči o ženy s předčasným porodem na hranici viability mortalitu a krátkodobou morbiditu novorozenců?**

V teoretické části práce uvádím podrobněji pozadí této problematiky. Většina rozvinutých zemí, včetně České republiky, má hranici viability nastavenou na 24. ukončený týden. Viabilitou se rozumí schopnost plodu narodit se živý, přežít a vyvíjet se dále. Hranice viability novorozenců se geograficky odlišují, což odráží mj. personální, přístrojové a jistě i etické aspekty péče o rodičky a děti. Kolem 24. ukončeného týdne těhotenství, tedy oficiální hranici viability v ČR, se nachází období nazývané „šedá zóna“, jehož dolní hranice – 22. ukončený týden - odráží možnost narodit se živý a horní hranice, přibližně 25. týden ( 24+6 ) pak fázi těhotenství, od které stoupají šance dětí na přežití bez vážného postižení. Období šedé zóny takto nazýváme pro nejisté a předem nepredikovatelné výsledky péče. Pojem používají jak porodníci, kteří takto označují těhotné, u nichž bezprostředně hrozí předčasný porod, tak i neonatologové, pro děti narozené v tomto období. Do nedávné doby i naše pracoviště vedlo péči o rodičky/předčasně rozené děti s uplatněním „národní“ hranice viability (24. ukončený týden ). V individuálních případech jsme však s našimi neonatology a rodiči diskutovali, jak postupovat při bezprostředním riziku předčasného porodu i před touto hranicí, tj. od 22. ukončeného týdne. Na retrospektivní analýzu tohoto přístupu k péči nás navedly relativně příznivé výsledky EXPRESS study, citované v obecné části práce [ 375, 376, 377, 378, 379, 380 ] . Počátek této studie je datován do doby před více jak 15 lety a předpokládali jsme, že od tohoto období se postupy péče o předčasně rozené děti i rodičky, kterým hrozil předčasný porod, dále rozvíjely. EXPRESS study zahrnovala děti rozené ještě o týden později než je autoritami doporučovaná horní hranice šedé zóny, tj. do 26. ukončeného týdne. 2/3 dětí porozené v období extrémní prematurity (22. ukončený – 26. ukončený týden) mělo v 6,5 letech minimální nebo žádné zdravotní problémy [ 376 ]. Abychom výsledky mohli porovnat s citovanou EXPRESS study, zařadili jsme do analýzy těhotenství a děti rozené v prakticky identickém intervalu, tj. 22+0 až 25+6 týden těhotenství. Na našem pracovišti probíhá péče o ženy s hrozícím předčasným porodem v období šedé zóny v souladu s principy managementu předčasného porodu ve vyšších týdnech těhotenství. Součástí našich postupů je mj. aplikace tokolytik, kortikoidů k indukci plicní zralosti plodu a případně antibiotik, zejména v rámci intrapartální GBS profylaxe či zajištění PPROM. Každá těhotná/rodička absolvuje konzultaci s porodníkem, neonatologem a klinickým psychologem. Diskutujeme léčebné postupy a způsob vedení porodu. Pokud je plod v jiné poloze než poloze podélné hlavičkou, doporučujeme vedení porodu císařským řezem po informovaném souhlasu s rodičkou. U každé

rodičky však volíme přísně individuální přístup stran způsobu vedení porodu po pečlivé diskusi s rodiči. Vážíme rizika pro matku - spojená s císařským řezem a na druhou stranu i rizika hypoxie/traumatu – spojená se spontánním porodem plodu v poloze koncem pánevním. EXPRESS study ukázala, že uplatněním tzv. proaktivního přístupu ze strany porodníků a neonatologů, ve srovnání s postupem bez těchto hlavních principů péče, mají děti lepší krátko- i dlouhodobé výsledky neonatální/dětské morbidit. Proaktivním přístupem se rozumí uplatnění čtyř antenatálních ( porod v perinatologickém centru/případný transport pacientky „in utero“, podání kortikosteroidů matce k indukci zralosti plic plodu, podání tokolýzy a vedení porodu císařským řezem) a čtyř postnatálních ( podání surfaktantu novorozenci orotracheálně do dvou hodin porodu, neonatolog byl přítomen přímo na porodním sále , dítě bylo po porodu intubováno a byla možnost ho přijmout na novorozeneckou JIP) opatření [ 378 ] .Všechna uvedená opatření naše pracoviště již dlouhodobě uplatňuje. Hlavní opatření bylo a je v našich podmínkách splněno automaticky – péče probíhá v perinatologickém centru. Další dvě opatření, tj. aplikace tokolýzy a podání kortikoidů k indukci plicní zralosti u žen s bezprostředním rizikem předčasného porodu, se také řadí k standardním prvkům našeho managementu. Nicméně ne vždy se podaří stihnout podat ( kompletní ) kůru kortikoidů ( tj. 4 dávky dexametasonu nebo 2 betametasonu ) , např. při rychlém průběhu předčasného porodu, a tak soubor zahrnoval i pacientky bez jejich aplikace. Dosud nebyla žádná analýza péče v této oblasti v rámci České republiky publikována. Naším hlavním cílem bylo zjistit, jak porodnické postupy ovlivňují výsledek péče a zdali s sebou nesou lepší výsledky stran morbidit dětí ve srovnání bez jejich uplatnění [ 377 ] . Vliv neonatologických proaktivních principů na výsledek péče jsme v naší práci nehodnotili. Jednalo se o retrospektivní analýzu, do které jsme zahrnuli pacientky s předčasným porodem ( jedno- i vícečetným těhotenstvím ) na hranici viability od 22+0 do 25+6 v letech 2009 až 2015. Evidovali jsme veškeré údaje týkající se jak péče o matky, včetně aplikace tokolytik, kortikoidů, způsobu vedení porodu apod., tak poměrně detailní údaje zahrnující péči o děti, včetně jejich morbidit a mortality. Délka těhotenství je standardně upravena dle údajů z prvotrimestrálního ultrazvukového vyšetření . Sledovaný soubor nezahrnoval jen údaje o spontánních předčasných porodech/PPROM, v menším počtu ( 14,5 % ) byly zastoupeny i pacientky, u nichž se jednalo o předčasný porod indikovaný a těhotenství bylo ukončeno císařským řezem. Nejčastějším důvodem k ukončení těhotenství byla preeklampsie, růstová restrikce plodu či abrupce placenty. Získali jsme data o celkem 166 dětech, z nichž přibližně třetina pocházela z vícečetných těhotenství. 60,8 % dětí se narodilo císařským řezem. Naprostá většina dětí ( 84,5 % ) se narodila poté, co měly jejich matky minimálně zahájenou kůru kortikoidů, jen u 37,3 % jsme ale stihli aplikovat celou kůru

kortikoidů k indukci plicní zralosti. Naprostá většina dětí byla intubována ještě na porodním sále. U několika živě narozených dětí došlo k úmrtí ještě na právě na porodním sále ( $n = 4$ , tj. 2,4 %). Všechny přeživší děti byly po zajištění na sále přijaty na novorozeneckou jednotku intenzivní péče, kde byly dále sledovány. Jak s mortalitou, tak i morbiditou, signifikantně korelovaly týden porodu i porodní váha, kompletní kúra kortikoidů a způsob vedení porodu. Tyto parametry byly posléze zahrnuty do vícerozměrné logistické regrese s uvedením OR (odds ratio) a 95% intervalů spolehlivosti (CI – confidence interval). Nejvýznamnějšími výstupy stran mortality bylo zjištění, že v tomto období každý gestační týden porodu navíc zlepšil šanci na přežití 2,3 násobně (OR = 2.3; 95% CI 1.346–3.971;  $p = 0.012$ ) a kompletní kúra kortikoidů 3,2 násobně. (OR = 3.2; 95% CI 1.262–8.275;  $p = 0.014$ ). Vliv císařského řezu na přežití se však prokázat nepodařilo. (OR = 2.077; 95% CI 0.929–4.645;  $p = 0.075$ ). Pokud se jedná o morbiditu, její ukazatele byly hodnoceny při propuštění z nemocnice. Mezi závažné formy dětské morbidity, které děti mohou limitovat v dalším životě, patří především těžké formy BPD, intraventrikulárního krvácení (IVH) a retinopatie nedonošených (ROP) III. a IV. stupně. Děti narozené na hranici viability buď posléze zemřely (všechny děti narozené v 22.ukončeném týdnu) nebo trpěly středně významnou až významnou BPD (děti narozené v 23.ukončeném týdnu). Významné snížení incidence BPD je patrné od 24.ukončeného týdne těhotenství. Závažné stupně intraventrikulárního krvácení (IVH) vykazovala většina dětí narozených v 22.-23.ukončeném týdnu, nicméně je patrné rapidní snížení incidence této komplikace od 24.ukončeného týdne. Souhrnně vzato, jen 7,5% dětí narozených v 23.ukončeném týdnu přežilo bez významné morbidity. Na druhou stranu, při narození ve 24.ukončeném týdnu je opět patrné významné zlepšení, kdy bylo z nemocnice propuštěno přibližně 40% dětí bez závažné morbidity, při narození od 25.ukončeného týdne těhotenství bylo z nemocnice propuštěno 64% dětí bez závažné morbidity. Při vícerozměrné logistické regresi se podařilo prokázat, že s každým gestačním týdnem porodu klesá 2,2 násobně výskyt závažných forem IVH. (OR = 2.2; 95% CI 1.170–4.046;  $p = 0.014$ ) Podobně se na snížení incidence IVH podílela i kompletní kúra kortikoidů. Kompozitně, při hodnocení celého souboru, bylo 40% dětí propuštěno z nemocnice bez závažné morbidity, nicméně jednalo se o děti narozené od 23.ukončeného do 25+6 týdne těhotenství. Jak již bylo uvedeno, z dětí narozených v 22.ukončeném týdnu nepřežilo žádné. Z dětí, které přežily bez závažné morbidity, mělo zahájenou indukci plicní zralosti 85% dětí a dokončenu kompletní kúru kortikoidů 48% dětí. Přestože bylo 74% dětí z této skupiny bez závažné morbidity porozeno císařským řezem, podobně jako v případě analýzy mortality, ani zde vícerozměrná logistická



regrese neprokázala vliv císařského řezu na morbiditu dětí. Podrobné údaje jsou uvedeny v originálním anglickém znění článku, včetně informací o morbiditě a mortalitě dětí [ 381 ] .

**Publikace:**

Šimják P, Smíšek J, Koucký M, Lamberská T, Plavka R, Hájek Z. Proactive approach at the limits of viability improves the short-term outcome of neonates born after 23 weeks' gestation. *J Perinat Med.* 2018 Jan 26;46(1):103-111. doi: 10.1515/jpm-2016-0264.

## 6 Diskuse

### 6.1 Ad Jak souvisí hladiny T regulačních lymfocytů v mateřské krvi s předčasným porodem? Je možné změny jejich počtu využít k predikci spontánní prematurity?

Cílem naší práce bylo pokusit se ověřit, zdali předchází předčasnému porodu významný pokles hodnot T regulačních lymfocytů a zdali je případné snížení jejich počtu možné využít k přesnější predikci předčasného porodu spolu s ultrazvukovou cervikometrií. Předchozí tři práce zabývající se touto problematikou měly odlišnou metodiku - porovnávaly hodnoty T regulačních lymfocytů především mezi skupinami žen s probíhajícím předčasným a termínovým porodem, tj. přímo v době porodu a v odlišných fázích těhotenství. Navíc bylo v práci stanovováno procentuální zastoupení T regulačních lymfocytů z celkového počtu T lymfocytů na rozdíl od naší práce, kdy jsme měřili absolutní koncentrace T regulačních lymfocytů. Práce Steinborn a Schober nenašly žádné statisticky významné rozdíly v procentuálním zastoupení T regulačních lymfocytů z celkového počtu T lymfocytů mezi skupinami žen s předčasným a termínovým porodem. Naše práce navázala na výsledky Xiong et al, kdy dle námi zjištěných dat je snížení počtu T regulačních lymfocytů spojeno s významně vyšším rizikem předčasného porodu [ 207, 208, 254 ]. Na rozdíl od předchozích citovaných, naše studie hodnotila vztah naměřených hodnot T regulačních lymfocytů k výskytu předčasného porodu pomocí prospektivního sledování pacientek. Potvrdili jsme pracovní hypotézu s tím, že absolutní počet T regulačních lymfocytů je významně snížen u žen, u kterých se následně rozvíjejí předčasný porod ve srovnání se těhotnými, které nakonec rodí v termínu. Zároveň jsme ukázali, že kombinované hodnocení počtu T regulačních lymfocytů spolu s ultrazvukovou cervikometrií je v predikci předčasného porodu mnohem přesnější než hodnocení jednotlivých parametrů. Neméně významným, byť statisticky nesignifikantním, byl nález vyššího počtu T regulačních lymfocytů u uživatelék progesteronu. Jak je již v předchozím textu uvedeno, adekvátní funkce progesteronových receptorů podporuje stabilitu těhotenství. V teoretické části práce jsem uvedl, předčasný porod provází mj. “downregulace“ progesteronových receptorů na různých imunních i neimunních buňkách. Progesteron se mj. prokazatelně podílí i na regulaci klíčové buněčné populace zajišťující prosperitu těhotenství – T regulačních lymfocytů. Předpokládané progesteronové receptory na různých typech buněk představují membránové PR (mPR $\alpha$ ). Cesta působení progesteronu na T regulační lymfocyty ještě není přesně prozkoumána, ale nejpravděpodobnějším kandidátem se zatím jeví „master regulator“ jejich počtu a funkce – transkripční faktor FoxP3 [ 179, 437 ]. Progesteron dle

velkého množství dat prokazatelně snižuje riziko předčasného porodu a jako jedna z cest se nabízí právě ovlivnění počtu a funkce T regulačních lymfocytů [ 469 ]. Původ snížení T regulačních lymfocytů není zatím znám. Na základě stávajících informací není možné říci, zdali je vlastní snížení počtu T regulačních lymfocytů možné považovat za jeden z hlavních spouštěcích procesů nebo je snížení jejich počtu důsledkem jiných faktorů. Závěrem lze říci, že naše práce jako první ukázala, jako jedna z prvních, na možné zapojení T regulačních lymfocytů do patofyziologie předčasného porodu. Naznačila také, že by stanovování počtu T regulačních lymfocytů mohlo pomoci v predikci předčasného porodu spolu s cervikometrií, případně dalšími metodami jako je např. stanovení koncentrace fetálního fibronektinu. Jsme si vědomi limitace naší studie, především relativně malého počtu vzorků. Další limit představuje také fakt, že stanovujeme celkový počet cirkulujících T regulačních lymfocytů a přitom klíčové procesy stran tolerance a stability těhotenství se odehrávají lokálně v decidue. Decidua je sice osídlena právě z cirkulujícího „pool“ T regulačních lymfocytů, ale tyto zde tvoří různé subpopulace, jejichž význam se teprve studuje a jejich počty nemusí korespondovat s hodnotami v mateřské krvi. Naše výzkumná skupina se nyní zaměřuje na co nejčasnější mapování změn v imunitě těhotné ženy již v průběhu prvního trimestru a zároveň studiu T regulačních lymfocytů v decidue u žen s preeklampsií a předčasným porodem. Rádi bychom pokračovali ve výzkumu právě v této oblasti.

## **6.2 Ad Snižuje vaginálně podávaný progesteron riziko předčasného porodu a současně i kolonizaci porodních *Ureaplasma urealyticum*?**

Naše práce byla první, která ukázala snížení výskytu *Ureaplasma urealyticum* v porodních cestách matky po podávání vaginálních tablet s progesteronem. Ve shodě s dalšími studiiemi naše výsledky ukazují, že kolonizace *Ureaplasma urealyticum* je spojena se zvýšeným výskytem předčasného porodu [ 470, 471 ]. Dále jsme prokázali, že riziko předčasného porodu je významně sníženo u pacientů léčených progesteronem a současně negativní kultivací *Ureaplasma urealyticum* v porodních cestách, ve srovnání se ženami s pozitivní kultivací na tohoto mikroba. Přesný mechanismus, kterým by progesteron mohl ovlivnit přítomnost mikroorganismů v porodních cestách, dosud nebyl objasněn [ 472 ]. Zatím můžeme jen spekulovat, že může souviset s imunomodulačními a protizánětlivými vlastnosti progesteronu. Peltier a kol. ve své in vitro studii hodnotili účinek progesteronu na produkci interleukinu-8 (IL-8) cervikálními epitelálními buňkami stimulovanými různými kmeny bakterií (včetně *Ureaplasma spp.*). Progesteron inhiboval bazální a bakteriemi stimulovanou produkci IL-8

vaginálními epitelálními buňkami. Zvýšil však produkci Il-8 endocervikálními buňkami (děložní hrdlo představuje vstupní „bránu“ do dělohy) , což naznačuje, že by mohl hrát lokální imunitní roli při ochraně proti přítomnosti *Ureaplasma urealyticum* v dolním genitálním traktu [ 473 ]. V další práci Kintner a kol. zkoumali ( in vitro ) vliv pohlavních hormonů na schopnost endometriálních epitelálních buněk „být infikovány“ a popsali progesteronem zprostředkovaný antagonismus pozitivního účinku estrogeneru na chlamydiovou infekci. Podobné výsledky dosáhl ve své práci i Wan a kol., který prokázal, že in vitro aktivace endocervikálních buněk progesteronem zvýšila vrozenou imunitní odpověď vyvolanou infekcí *Chlamydia trachomatis*, čímž se zvýšila odolnost vůči této infekci. Ve své práci totiž zjistil, že podání progesteronu zvýšilo vrozenou imunitní odpověď zvýšením exprese antimikrobiálních mediátorů, prozánětlivých cytokinů a mediátorů , aktivací Th1 – a potlačením Th2 – lymfocytární odpovědi [ 474, 475 ]. Tyto dvě práce, které uvádím, jsou sice jen „in vitro“, nicméně v rozporu s tím, jaké máme dosud informace o působení progesteronu na rovnováhu Th1/Th2 – lymfocytární odpovědi a tedy imunitní systém matky v souvislosti s tolerancí plodu. Dle dosavadních zpráv progesteron ve vysokých koncentracích podporuje vývoj T regulačních lymfocytů , potlačuje aktivitu NK buněk, potlačuje produkci protilátek a podporuje rozvoj Th2 – oproti Th1 - lymfocytární odpovědi [ 437, 476, 477 ]. Rozdílné výsledky studií si zatím neumíme vysvětlit, nabízí se však odlišné působení aditivně podávaného progesteronu v přítomnosti infekce. Předpokládáme, že progesteron působí jako „imunosteroid“ tím, že přispívá k zajištění materno-fetální tolerance a zároveň jeho protizánětlivé účinky pomáhají snižovat náchylnost k infekcím [ 180, 478 ]. Přítomnost *Ureaplasma urealyticum* i jiných atypických bakterií v porodních cestách je spojena s četnými novorozenci komplikacemi [ 479 ] . Zatím není známo, proč se uvedené komplikace ( přes častý výskyt *Ureaplasma urealyticum* ) v těhotenství projeví jen u menšiny těhotných. Výzkumné projekty jsou a budou v blízké době více zaměřeny na vztah mikroorganismů k imunitnímu systému těhotných a také na jejich význam v patogenezi předčasného porodu a pro budoucí lidské zdraví. Jak se ale stále více ukazuje, antibiotika pravděpodobně nebudou patřit mezi hlavní nástroje, které by měly působit v sekundární prevenci spontánního předčasného porodu. Naše výsledky ukazují, že léčba vaginálním progesteronem nejen snižuje riziko předčasného porodu, ale redukuje také osídlení porodních cest *Ureaplasma urealyticum* a na podkladě dostupných literárních údajů se domníváme, že toto prospěšné snížení by mohlo souviset s odpovídajícím snížením novorozenecké morbidit [ 406 ].

### **6.3 Ad Mohou snížené hladiny vybrané složky vrozené imunity mannose-bindig lectinu ( MBL ) v průběhu těhotenství i mimo něj souviset s rizikem nepříznivých výsledků těhotenství, především předčasného porodu a nízké porodní váhy novorozenců?**

První část naší studie zkoumala, jak souvisí hladiny MBL odebírané ženám v průběhu těhotenství s předčasným porodem a porodními váhami dětí. Výsledky výzkumu ukázaly, že snížené hladiny MBL v mateřském séru jsou spojeny se zvýšeným rizikem předčasného porodu před 34.týdnem těhotenství . Stejně tak jsme prokázali souvislost snížených hladin MBL s nízkou porodní vahou dětí, což je – se vši pravděpodobností – důsledek předčasného porodu. Neméně důležité bylo i zjištění vyššího výskytu histologické chorioamnionitis a funisitis ve skupině žen se závažně sníženou hodnotou MBL, tj. pod 100 ng/mL. Přítomnost histologické zánětlivé odpovědi plodových obalů a především pupečníku je spojena s vyšším rizikem neonatální morbidit [ 480 ]. Zatím neexistuje shoda v literatuře o tom, jak hladiny MBL ovlivňují výsledky těhotenství. Může to souviset mj. s tím, že se metodika prací zabývajících se tímto tématem poměrně významně lišila a navíc, většina studií hodnotila vztah mutací a polymorfismů MBL2 genu k výsledku těhotenství. Jen několik prací, které níže uvádím, se však zabývalo vztahem mezi hladinami MBL měřenými v průběhu těhotenství a předčasným porodem. Naše výsledky jsou v souladu s prací Calcavur et al, která také prokázala souvislost mezi snížením MBL a předčasným porodem [ 458 ]. Wang et al ve své studii odebíral hladiny MBL ve II.trimestru ( 16-23.týden) a porovnával je mezi skupinou žen, které nakonec rodily v termínu a skupinou žen, které porodily předčasně. Nenalezl však mezi nimi statisticky významné rozdíly. Některé z pacientek měly ještě posléze znovu stanovenou hladinu MBL v době porodu a zatímco pacientky s termínovým porodem měly trend vzestupu hladin MBL od druhého trimestru k porodu, pacientky s předčasným porodem měly hodnoty MBL přibližně stejných hladin jako ve druhém trimestru [ 459 ]. Přitom je dle dosavadních dat patrné, že hladiny MBL v těhotenství postupně stoupají s vrcholem ve III.trimestru/před termínovým porodem a po porodu rapidně klesají k hodnotám nižším než byly v průběhu I.trimestru [ 456 ]. Podobné výsledky, jako naše práce, ukazuje Sundtoft et al. Porovnávala mj. hladiny MBL u žen s krátkým hrdlem a kontrolní skupinou fyziologických těhotných. Zjistila statisticky významně snížené hodnoty MBL ve skupině žen s krátkým hrdlem proti kontrolám [ 481 ]. Incidence deficitu MBL v lidské populaci je poměrně vysoká. Předpokládáme, že za tím stojí relativně vysoký počet mutací/polymorfismů MBL2 genu. Hladiny MBL pod 500 ng/mL dosahuje zřejmě až 30% populace, závažný deficit 100 ng/mL má jen cca 5% lidí [ 482 ] .

Zatím neumíme určit přesný zdroj sérového mateřského MBL. Je produkován velkým množstvím buněk lidského těla, včetně trofoblastu. Podobně jako další collectiny, které jsou produkovány v průběhu těhotenství, je považován za důležitý regulátor materno-fetální tolerance [ 483 ] . Normální vývoj těhotenství je zajištěn adekvátní interakcí imunitního systému matky a semiallogenního plodu a se vši pravděpodobností i mikrobiomu matky. Jak jsem uvedl v teoretické části práce, je pravděpodobné, že se plod v průběhu těhotenství nevyvíjí ve sterilním prostředí. Domníváme se, že deficit MBL sám o sobě nestačí ke spuštění předčasného porodu. Autority v literatuře stále více diskutují, jak prosperitu těhotenství, právě v kontextu s adekvátní funkcí imunitního systému matky, ovlivňuje originální, nejen patogenní, mikrobiota v různých kompartmentech lidského těla těhotné [ 273, 484, 485 ]. Věříme, že budoucí práce budou schopny lépe popsat vztah imunitního systému, originálního mikrobiomu matky a vyvíjejícího se plodu a jak se tyto procesy podílejí na patogenezi předčasného porodu. Ve druhém našem projektu jsme se zaměřili na hodnocení hladin MBL odebíraných mimo období těhotenství u žen, které měly anamnézu závažných těhotenských komplikací jako jsou předčasný porod, opakované potracení a intrauterinní úmrtí plodu. Zajímalo nás, zdali budou hladiny MBL odlišné ve srovnání se skupinou žen s anamnézou termínových porodů. V době sběru dat jsme již měli možnost navíc stanovit funkční vyšetření lektinové dráhy komplementu, na které se mj. podílí právě MBL. Jak již bylo uvedeno, funkční vyšetření lektinové dráhy komplementu neodráží jen kvantitativní změny hladin MBL, ale pravděpodobně i kvalitativní změny této molekuly provázející některé mutace MBL2 genu [ 467 ]. Podařilo se nám navázat a potvrdit výsledky naší předchozí práce – ženy s anamnézou předčasného porodu mají významně snížené hladiny MBL proti kontrolní skupině i mimo období těhotenství . Nově jsme také prokázali, že mají ženy s anamnézou spontánní prematurity významně sníženou funkční aktivitu lektinové dráhy komplementu proti skupině žen s normálními výsledky těhotenství. Výsledky naší práce také potvrdily závěry již dříve publikovaných prací o vztahu deficitu MBL a opakovaného potracení [ 486, 487, 488 ]. Poprvé jsme prokázali, že jak snížené hladiny MBL, tak i nižší funkční aktivita lektinové dráhy komplementu, jsou spojeny s rizikem nevysvětlitelného fetálního úmrtí plodu. Podobně jako spontánní předčasný porod, provází i potrat či intrauterinní úmrtí plodu zánětlivý proces. Určitý počet fetálních úmrtí provází robustní „odmítavá reakce imunity matky na přítomnost plodu“ ( maternal anti – fetal rejection v angl.originále ) charakterizovaná mj. histologickou choriomnionitis [ 447, 489 ]. Jako první jsme popsali vztah funkčního vyšetření lektinové dráhy komplementu k diskutovaným těhotenským komplikacím. Pokusili jsme se analyzovat, jak vypadá výskyt těhotenských komplikací ve skupinách pacientek s patologicky sníženou

funkční aktivitou lektinové dráhy komplementu ( méně jak 10% ). Přestože výsledky nedosáhly statistické významnosti, je patrná poměrně vysoká četnost patologických výstupů těhotenství u žen s takto sníženou funkcí lektinové dráhy komplementu ve srovnání s kontrolami. Funkční vyšetření lektinové dráhy komplementu, v souladu s literaturou, považujeme za přesnější proti prostému hodnocení hladin MBL. Může odrážet deficit či kvalitativní změny MBL i jiných složek lektinové dráhy komplementu [ 490 ]. Je nepravděpodobné, že by samotný deficit MBL mohl spustit „kaskádu“ vedoucí k potratu, předčasnému porodu či intrauterinnímu úmrtí plodu. Na druhou stranu, interakce MBL s jinými faktory může hrát roli v patofyziologii těchto komplikací. MBL je řazen mezi solubilní PRRs ( pattern recognition receptors ) . Snížené hladiny či kvalitativní změny molekuly MBL mohou vést k neadekvátní efferocytóze a tak přispívat k zánětlivé odpovědi. Efferocytózou se rozumí „odklizení“ poškozených či apoptotických buněk. Jak je stále více zřejmé, dysregulace samotného mateřského imunitního systému na jakékoliv úrovni může vést k různými komplikacím těhotenství [ 491 ]. Mnoho těhotenských komplikací je v současnosti považováno za důsledek neadekvátní kooperace mateřského imunitního systému, vyvíjejícího se plodu a dalšími faktory, jako jsou především originální mikrobiota lidského těla. MBL je, jako důležitá součást vrozené imunity , zodpovědný za první kontakt s mikroorganismy a také za efferocytózu. Zatím neumíme uspokojivě vysvětlit další souvislosti, ale naše výsledky naznačují, že je neadekvátní funkce lektinové dráhy komplementu spojena s vyšším rizikem spontánní prematurity, nevysvětlitelného fetálního úmrtí a opakovaného potracení.

#### **6.4 Ad Jak ovlivňují porodnické postupy v péči o ženy s předčasným porodem na hranici viability mortalitu a krátkodobou morbiditu novorozenců?**

Česká republika patří mezi naprostou světovou špičku v péči o předčasně rozené děti. Perinatální mortalita dosahuje velmi nízkých hodnot a přesto spolu s neonatologem hledáme stále možnosti, jak výsledky dále zlepšovat. Nejvýznamnějším faktorem, který ovlivňuje morbiditu a mortalitu dětí, je dosažený týden porodu – s vyššími týdny těhotenství postupně riziko komplikací klesá. Výsledky péče o děti bezesporu ovlivňuje také porodnický management. Péče o těhotné s různými komplikacemi zastřešuje obor materno-fetální medicína. Přestože je incidence předčasných porodů v čase přibližně stejná, přibývá matek, které dosáhnou těhotenství ve vyšším věku, po období dlouhodobě léčené neplodnosti nebo s různými závažnými nemocemi. Tyto okolnosti s sebou nesou i vyšší riziko spontánního i indikovaného předčasného porodu, nezřídka na hranici viability. Pro těhotné se často jedná o jediné

těhotenství, kterého mohou dosáhnout. Proto je v současnosti problematika péče o těhotné a děti v období šedé zóny velmi aktuální. Důležité je oba rodiče informovat, jak dle aktuálně dostupných dat vypadá prognóza dětí. Rodiče je také potřeba seznámit s tím, jak výsledky péče ovlivňuje náš porodnický management. K retrospektivní analýze jsme mj. přistoupili právě proto, že dosud nebyly žádné údaje z této oblasti pro Českou republiku k dispozici. Hlavním záměrem této práce bylo pokusit se zjistit, jak ovlivňují naše porodnické postupy mortalitu a krátkodobou morbiditu dětí na hranici viability. Přístup k managementu předčasného porodu v šedé zóně se v může mezi jednotlivými perinatologickými centry lišit a tak není překvapivé, že výsledky dosavadních prací byly různorodé. Pokud se porovnávají porodnické a neonatologické postupy mezi centry, řadí se to naše mezi více proaktivní, jak v počtu císařských řezů, tak i aplikaci kortikoidů. Srovnatelné počty císařských řezů a četnost aplikací kortikoidů v šedé zóně uvádí např. Smith nebo Kallén [ 377, 492 ]. Porovnáním různých zahraničních studií jsme zjistili podobné výsledky stran přežití do propuštění z nemocnice. Většina autorů se shoduje na velmi malých šancích dětí na přežití v 22.týdnu, s razantním zlepšením prognózy stran přežití od 24.ukončeného týdne. Výsledky jsou lepší s každým gestačním týdnem i váhou dětí. Hlavním nástrojem k oddálení hrozícího předčasného porodu - pokud se nejedná o předčasný porod indikovaný - představuje tokolyza. Ta je považována za nezbytnou součást proaktivního přístupu. Nicméně sama o sobě nepřináší snížení neonatální morbidity a mortality, její hlavní význam spočívá v získání času na aplikaci kortikoidů k indukci plicní zralosti [ 493 ]. V naší práci jsme potvrdili stávající zkušenosti – mortalita a závažnost IVH jsou nepřímo úměrné stáří těhotenství. V souladu se závěry jiných studií výsledky ukázaly, že i v těhotenstvích na hranici viability má smysl podání, pokud možná celé kůry, kortikoidů. Aplikace kortikoidů je považována za další důležitou součást proaktivního přístupu k rodičkám s hrozícím předčasným porodem v šedé zóně [ 494 ]. Podání kortikoidů bylo spojeno nejen s lepší šancí na přežití v době propuštění, ale především snížení rizika IVH 3.-4.stupně. Na druhou stranu, nepodařilo se potvrdit jejich vliv na těžké formy BPD či ROP [ 495, 496 ]. Diskutabilní téma představuje problematika vedení porodu dětí v šedé zóně. Některé dosavadní práce, včetně EXPRESS study, ukázaly „protektivní“ vliv císařského řezu na mortalitu i morbiditu [ 377, 497, 498 ], některé naopak výhodu operačního ukončení těhotenství neprokázaly [ 499 ]. Počty dětí přeživších do propuštění byly v naší práci vyšší u žen, které porodily císařským řezem. Vícerozměrná logistická regrese ale neukázala významnou souvislost císařského řezu jak s mortalitou, tak i morbiditou. Domníváme se ale, že lepší výsledky u dětí porozených císařským řezem mohou souviset s vyššími gestačními týdny. Na hranici viability, tj. v 22.-23.ukončeném týdnu těhotenství, se narodila většina dětí vaginálně. Jsme si vědomi, že toto



téma je kontroverzní a jistě i nadále bude předmětem diskusí. Operační výkon je potřeba pečlivě zvažovat a porovnat výhody, které s sebou může nést pro dané těhotenství s tím, jaká může nést rizika do dalších těhotenství. Na našem pracovišti, mj. i v kontextu s daty zjištěnými ve studii, preferujeme striktně individuální přístup ke každé pacientce, s ohledem na její anamnézu, věk a aktuální těhotenství. Pokud se jedná o těhotenství na hranici viability, tj. 22.-23. ukončený týden, po pečlivé diskusi s rodiči, doporučujeme vaginální vedení porodu. Přibližně od 24. ukončeného týdne, pokud je plod v jiné poloze než poloze podélné hlavičkou, doporučujeme vedení porodu císařským řezem. Pokud porovnáme výsledky s podobnými pracemi, morbidita dětí pro jednotlivé gestační týdny byla v našem souboru podobná, ale přežití v době propuštění bez významných morbidit bylo vyšší [ 500, 501 ]. Závěrem lze říci, že péče o těhotné a děti v šedé zóně je velmi náročná pro všechny zúčastněné. Představuje mezioborovou oblast, kdy ke každé pacientce přistupujeme individuálně. Výsledky naší práce potvrdily závěry zahraničních studií. Vyplatí se uplatňovat proaktivní principy, tj. oddálit porod do vyšších gestačních týdnů a podat, pokud možno, kompletní kůru kortikoidů. V nižších gestačních týdnech, byť velmi individuálně, preferujeme vaginální vedení porodu. Za hranicí 24. ukončeného týdne stoupají šance dětí na přežití bez významné morbidity a tak se častěji součástí našeho managementu stává další proaktivní princip – císařský řez. Věříme, že práce měla také další – organizační – význam. Poukázat na význam transportu in utero do perinatologického centra v období šedé zóny jako dalšího proaktivního principu. Jsme si vědomi, že výsledky naší práce ukazují krátkodobé výstupy péče. Přežití v době propuštění bez významné morbidity s sebou nese dobré šance na normální vývoj dětí v budoucnu, zaručit ho ale nelze. Extrémní nezralost dětí narozených v období šedé zóny je spojena se samostatným rizikem abnormálního neuropsychiatrického vývoje, které lze hodnotit až v delším časovém horizontu řádově let. Proto je naším dalším cílem mj. prospektivní hodnocení takových dětí ve spolupráce s pediatri.

## 7 Závěr

Ve své habilitační práci jsem se pokusil nejprve shrnout aktuální poznatky o spontánním předčasném porodu, především o jeho patofyziologii. Vzhledem k dlouhodobé práci na gynekologicko-porodnické klinice 1.LF UK v Praze mám možnost vést péči o velké množství těhotných s hrozícím, i rodiček s probíhajícím předčasným porodem. Díky důvěře vedení naší kliniky jsem měl, i stále mám, příležitost zařazovat do managementu předčasného porodu různá opatření i léky, které se postupně staly součástí opatření v rámci národních doporučených postupů. V úzké spolupráci s neonatologiy neustále přehodnocujeme výsledky naší péče, kdy je čím dál více zřejmé, že prognóza předčasně narozeného dítěte souvisí nejen s délkou těhotenství, ale i s jeho managementem. Nejvýznamnější prvek péče představuje adekvátní „timing“ tokolýzy a kortikoidů k indukci plicní zralosti plodu. Nicméně predikce předčasného porodu dle stávajících metod není stále dostatečně přesná a řada těhotných je dlouhodobě hospitalizována a přitom nakonec rodí v termínu. Na druhou stranu, nemalé počty žen rodí předčasně bez „varovných“ signálů. Materno-fetální medicína s sebou nese mj. doplňování znalostí z jiných oborů, které by mohly lépe odpovídat na otázky spojené s pozadím spontánního předčasného porodu. Jedním z takových oborů je reprodukční imunologie. Mnoho prací se v tomto oboru zabývá úlohou mateřské imunity v patofyziologii předčasného porodu ale i jiných těhotenských komplikací. Některé z nich přinesly informaci o tom, že relativní snížení počtu T regulačních lymfocytů předchází (předčasněmu) porodu a tak jsme se rozhodli zařadit stanovení jejich počtu do našeho výzkumného projektu. Naším cílem bylo zjistit, zdali je snížení jejich absolutního počtu spojeno s předčasným porodem a pokud ano, jestli je možné využít těchto výsledků k predikci předčasného porodu. Naši hypotézu jsme v práci potvrdili - snížení absolutního počtu T regulačních lymfocytů předchází předčasněmu porodu. Kromě toho jsme ukázali, že je kombinované využití stanovení jejich počtu spolu s cervikometrií mnohem přesnějším nástrojem predikce předčasného porodu než samostatné hodnocení cervikometrie nebo počtu T regulačních lymfocytů. Nadále pokračujeme v projektu predikce předčasného porodu a hledáme další vhodné ukazatele, které by mohly pomoci vyhledávat ženy s rizikem předčasného porodu a posléze i adekvátnímu časování tokolýzy a kortikoidů k indukci plicní zralosti. Primární prevence předčasného porodu zatím neexistuje. Jeden z nástrojů, který pomáhá v jeho sekundární prevenci a tímto způsobem snižuje incidenci předčasného porodu, představuje progesteron. Řadu let víme, že jeho podání u žen s anamnézou

předčasného porodu a/nebo krátkým děložním hrdlem snižuje riziko předčasného porodu a neonatální morbiditu. Zajímalo nás, zdali podání progesteronu může ovlivňovat morbiditu dětí i jiným mechanismem než jen podílem na prodloužení těhotenství. Vědomi si imunomodulačních a protizánětlivých vlastností progesteronu jsme v našem dalším projektu zkoumali jeho vliv na kolonizaci porodních cest mikroorganismem *Ureaplasma urealyticum*. Výskyt *Ureaplasma urealyticum* v porodních cestách předčasně rodících žen s sebou nese vyšší riziko neonatální morbiditu. V práci jsme potvrdili naši hypotézu, kdy vaginální podávání progesteronu snižuje osídlení porodních tímto mikroblem a spekulujeme tak, že může tímto mechanismem přispívat k snížení neonatální morbiditu. Desítky let je v povědomí porodníků informace, že je infekce nejvýznamnější spouštěcí příčina předčasného porodu. S přibýváním dat z různých prací však je stále více zřejmé, že mikroorganismy provázejí naše životy mnohdy přirozeně, rozvíjí se tak problematika studia mikrobiomu. Souběžně s tím se řada projektů zabývá rolí mateřské imunity v pozadí prematurity i jiných těhotenských komplikací. V našich dalších dvou projektech jsme potvrdily naše hypotézy, kdy funkční deficit jedné ze složek vrozené imunity – komplementu – může přispívat nejen k spontánnímu předčasnému porodu, ale i dalších závažným komplikacím, jako jsou opakované potrácení a nevysvětlitelné fetální úmrtí. Domnívám se však, že by se odpovědi na otázky spojené s patogenezí předčasného porodu i jiných komplikací těhotenství mohly skrývat v pochopení interakci imunitního systému s mikrobiotou matky. Jak jsem již uvedl, prognóza předčasně rozených dětí souvisí i s porodnickým managementem péče. Nemalé množství těhotných dospěje do bezprostředního rizika předčasného porodu na hranici viability. Cílem práce bylo pokusit se vyhodnotit, jak souvisí porodnický management v těhotenství na hranici viability – šedé zóně - s výsledky péče na straně dětí. Přestože výsledky stran prognózy dětí v tomto období nejsou zcela uspokojivé, jsou v souladu s daty z předních světových pracovišť. Informace, která jsme získali, nám pomáhají v pečlivé diskusi s rodiči tak, abychom byli schopni lépe vysvětlovat, jakou lze pro jednotlivé týdny těhotenství očekávat prognózu dětí.

## 8 Publikace autora vztahující se k problematice habilitační práce

### Vědecké monografie

1. **KOUCKÝ, Michal** - SMÍŠEK, Jan - PAŘÍZEK, Antonín - KACEROVSKÝ, Marian. *Spontánní předčasný porod*. 1 vyd. Praha: Maxdorf, 2014. 155 s. ISBN 978-80-7345-416-6.

### Kapitoly v monografiích

1. HRBÁČKOVÁ, Hana – KOUCKÝ, Michal. Předčasný porod. In: *Moderní farmakoterapie v gynekologii a porodnictví*. 3. aktualiz.a přeprac. vyd. Praha: Maxdorf, 2019.332-342 s. ISBN: 978-80-7345-607-8
2. **KOUCKÝ, Michal** – ŽIVNÝ, Jaroslav. Těhotenství. In: MAREK, Josef - HÁNA, Václav et al. *Endokrinologie*. 1 vyd. Praha: Galén, 2017. s.402-414. ISBN 978-80-7262-484-3.
3. VRÁBLÍKOVÁ, Hana — KOUCKÝ, Michal. Předčasný porod. In: *Moderní farmakoterapie v gynekologii a porodnictví*. 2. rozšířené vydání. Praha : Maxdorf, 2017, s. 338-347. ISBN: 978-80-7345-482-1.
4. PAŘÍZEK, Antonín a kol.(KOUCKÝ, Michal). *Kniha o těhotenství, porodu a dítěti. Sv. 1. Těhotenství*. 5 vyd. Praha: Galén, 2015. 481 s. ISBN 978-80-7492-214-5.
5. PAŘÍZEK, Antonín a kol. (KOUCKÝ, Michal). *Kniha o těhotenství, porodu a dítěti. Sv. 2. Porod*. 5 vyd. Praha: Galén, 2015. 397 s. ISBN 978-80-7492-215-2.
6. PAŘÍZEK, Antonín a kol. (KOUCKÝ, Michal). *Kritické stavy v porodnictví*. 1 vyd. Praha: Galén, 2012. 285 s. ISBN 978-80-7262-949-7.
7. VRÁBLÍKOVÁ, Hana - KOUCKÝ, Michal. Předčasný porod. *Moderní farmakoterapie v gynekologii a porodnictví*. 1 vyd. Praha: Maxdorf - Jessenius, 2014, s. 303-312.
8. **KOUCKÝ, Michal**. Infekce streptokokem skupiny B. In: *Kritické stavy v porodnictví*. 1. vyd. Praha: Galén ; Kamenice: MCC Publishing, 2012, s. 248-249. ISBN: 978-80-7262-949-7.
9. **KOUCKÝ, Michal** — PAŘÍZEK, Antonín. Vícečetné těhotenství. In: *Kritické stavy v porodnictví*. 1. vyd. Praha: Galén; Kamenice: MCC Publishing, 2012, s. 169-173. ISBN: 978-80-7262-949-7.

10. **KOUCKÝ, Michal.** Vzduchová embolie v porodnictví. In: *Kritické stavy v porodnictví*. 1. vyd. Praha: Galén; Kamenice: MCC Publishing, 2012, s. 111-115. ISBN: 978-80-7262-949-7.
11. KREJČÍ, Hana — KOUCKÝ, Michal — HORÁKOVÁ, Vladimíra. Hypertenze a preeklampsie v těhotenství. In: *Kritické stavy v porodnictví*. 1. vyd. Praha: Galén; Kamenice: MCC Publishing, 2012, s. 70-74. ISBN: 978-80-7262-949-7.
12. **KOUCKÝ, Michal** — ŽIŽKA, Zdeněk — PAŘÍZEK, Antonín. Intrauterinní chirurgie. In: *Kritické stavy v porodnictví*. 1. vyd. Praha: Galén; Kamenice: MCC Publishing, 2012, s. 68-69. ISBN: 978-80-7262-949-7.
13. **KOUCKÝ, Michal.** *Patologie metabolismu kyseliny listové a těhotenství*. Praha: Levret, 2011. 123-132 s. ISBN: 978-80-87070-53-6.
14. HÁJEK, Zdeněk - GERMANOVÁ, Anna - KOBILKOVÁ, J. - KOUCKÝ, Michal - KALOUSOVÁ, Marta - PAŘÍZEK, Antonín - ZIMA, Tomáš. New markers in detection of inflammation in PPRM. In: *Perinatal medicine*. 1 vyd. Florencie: Medimond, 2008. s. 475-479. ISBN 978-88-7587-387-5.

#### **Práce v impaktovaných časopisech s uvedením výše IF**

1. **KOUCKÝ M.** - MALÍČKOVÁ K. - KOPŘIVOVÁ H. - CINDROVÁ-DAVIES T. - ČAPEK V. - PAŘÍZEK A. Serum mannose-binding lectin (MBL) concentrations are reduced in non-pregnant women with previous adverse pregnancy outcomes. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2020 Apr 26:e12892. doi: 10.1111/sji.12892. [Epub ahead of print]  
IF= 2,563 (2018)
2. HILL, M. - HÁNA, Václav - VELÍKOVÁ, M. - PAŘÍZEK, Antonín - KOLÁTOROVÁ, L. - VÍTKŮ, J. - ŠKODOVÁ, T. - ŠIMKOVÁ, M. - ŠIMJÁK, Patrik - KANCHEVA, R. - KOUCKÝ, Michal - KOKRDOVÁ, Zuzana - ADAMCOVÁ, Karolína - ČERNÝ, Andrej - HÁJEK, Zdeněk - DUŠKOVÁ, M. - BULANT, Josef - STÁRKA, L.. A Method for Determination of One Hundred Endogenous Steroids in Human Serum by Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Physiological Research*. 2019, **68**(2), 179-207. ISSN 0862-8408. IF = 1.701 (2018)
3. KOPŘIVOVÁ, Helena - HÁJKOVÁ, Michaela - KOUCKÝ, Michal - MALÍČKOVÁ, Karin - HOLÁŇ, Vladimír - KRULOVÁ, Magdaléna. Kinetics of Helios(+) and Helios(-) T regulatory cell subsets in the circulation of healthy pregnant women. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2019, **89**(4), e12754. ISSN 0300-9475. IF = 2.563 (2018)

4. **KOUCKÝ, Michal** - MALÍČKOVÁ, Karin - KOPŘIVOVÁ, Helena - CINDROVÁ-DAVIES, T. - HRBÁČKOVÁ, H. - ČERNÝ, Andrej - ŠIMJÁK, Patrik - PAŘÍZEK, Antonín - ZIMA, Tomáš. Low maternal serum concentrations of mannose-binding lectin are associated with the risk of shorter duration of pregnancy and lower birthweight. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2018, **88**(1), e12675. ISSN 0300-9475. IF= 2,563 (2018)
5. ŠIMJÁK, Patrik - SMÍŠEK, Jan - KOUCKÝ, Michal - LAMBERSKÁ, Tereza - PLAVKA, Richard - HÁJEK, Zdeněk. Proactive approach at the limits of viability improves the short-term outcome of neonates born after 23 weeks' gestation. *Journal of Perinatal Medicine*. 2018, **46**(1), 103-111. ISSN 0300-5577. IF = 1.361 (2018)
6. **KOUCKÝ, Michal** - MALÍČKOVÁ, Karin - CINDROVA-DAVIES, Tereza - SMÍŠEK, Jan - VRÁBLÍKOVÁ, Hana - ČERNÝ, Andrej - ŠIMJAK, Patrik - SLOVÁČKOVÁ, Miroslava - PAŘÍZEK, Antonín - ZIMA, Tomáš. Prolonged progesterone administration is associated with less frequent cervicovaginal colonization by *Ureaplasma urealyticum* during pregnancy - Results of a pilot study. *Journal of Reproductive Immunology*. 2016, **116**(August), 35-41. ISSN 0165-0378. IF = 2.798 (2016)
7. PAŘÍZEK, Antonín - DUŠKOVÁ, M. - VÍTEK, Libor - ŠRÁMKOVÁ, M. - HILL, M. - ADAMCOVÁ, Karolína - ŠIMJAK, Patrik - ČERNÝ, Andrej - KORDOVÁ, Z. - VRÁBLÍKOVÁ, Hana - BOUDOVA, Barbora - KOUCKÝ, Michal - MALÍČKOVÁ, Karin - STÁRKA, L.. The Role of Steroid Hormones in the Development of Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy. *Physiological Research*. 2015, **64**(Supplement 2), S203-S209. ISSN 0862-8408. IF = 1.643 (2015)
8. MALÍČKOVÁ, Karin - KOUCKÝ, Michal - PAŘÍZEK, Antonín - PELINKOVÁ, Květa - BRODSKÁ, Helena - HÁJEK, Zdeněk - GERMANOVÁ, Anna - MESTEK, Oto - ZIMA, Tomáš. Diagnostic and prognostic value of presepsin in preterm deliveries. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2015, **28**(9), 1032-1037. ISSN 1476-7058. IF = 1.674 (2015)
9. PAŠKOVÁ, Andrea - PAŘÍZEK, Antonín - HILL, M. - VELIKOVA, M. - KUBATOVA, J. - DUSKOVA, M. - ADAMCOVÁ, Karolína - KOUCKÝ, Michal - ŠIMJAK, Patrik - ČERNÝ, Andrej - STARKA, L.. Steroid Metabolome in the Umbilical Cord: Is It Necessary To Differentiate Between Arterial and Venous Blood?. *Physiological Research*. 2014, **63**(1), 115-126. ISSN 0862-8408. IF = 1.293 (2014)
10. MALÍČKOVÁ, Karin - KOUCKÝ, Michal - PAŘÍZEK, Antonín - PELINKOVÁ, Květa - BRODSKÁ, Helena - HÁJEK, Zdeněk - GERMANOVÁ, Anna - MESTEK, Oto - ZIMA, Tomáš. Diagnostic and prognostic value of presepsin in preterm deliveries. In: *Journal of Reproductive Immunology*. CLARE: ELSEVIER IRELAND LTD, 2014. **102**58-58. ISSN 0165-0378. IF = 2.815 (2014)

11. PAŘÍZEK, Antonín - KOUCKÝ, Michal - DUSKOVA, Michaela. Progesterone, inflammation and preterm labor. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2014, **139**(January), 159-165. ISSN 0960-0760.  
IF = 3.628 (2014)
12. **KOUCKÝ, Michal** - MALÍČKOVÁ, Karin - CINDROVA-DAVIES, Tereza - GERMANOVÁ, Anna - PAŘÍZEK, Antonín - KALOUSOVÁ, Marta - HÁJEK, Zdeněk - ZIMA, Tomáš. Low levels of circulating T-regulatory lymphocytes and short cervical length are associated with preterm labor. *Journal of Reproductive Immunology*. 2014, **106**(neuvedeno), 110-117. ISSN 0165-0378.  
IF = 2.815 (2014)
13. HILL, Martin - PAŠKOVÁ, Andrea - KANCEVA, Radmila - VELIKOVA, Marta - KUBATOVA, Jana - KANCHEVA, Lyudmila - ADAMCOVÁ, Karolína - MIKEŠOVÁ, Michaela - ŽIŽKA, Zdeněk - KOUCKÝ, Michal - SARAPATKOVA, Hana - KAČER, Viktor - MATUCHA, Petr - MELOUN, Milan - PAŘÍZEK, Antonín. Steroid profiling in pregnancy: A focus on the human fetus. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2014, **139**(January), 201-222. ISSN 0960-0760.  
IF = 3.628 (2014)
14. GERMANOVÁ, Anna - MURAVSKÁ, Alexandra - JÁCHYMOVÁ, Marie - HÁJEK, Zdeněk - KOUCKÝ, Michal - MESTEK, Oto - ZIMA, Tomáš - KALOUSOVÁ, Marta. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) and glyoxalase I gene polymorphisms in pathological pregnancy. *Clinical Biochemistry*. 2012, **45**(16-17), 1409-1414. ISSN 0009-9120.  
IF = 2.450 (2012)
15. GERMANOVÁ, Alexandra - JÁCHYMOVÁ, Marie - GERMANOVÁ, Anna - KOUCKÝ, Michal - HÁJEK, Zdeněk - ZIMA, Tomáš - KALOUSOVÁ, Marta. Pregnancy-Associated Plasma Protein A Polymorphisms in Patients with Risk Pregnancies. *Folia Biologica*. 2011, **57**(2), 82-85. ISSN 0015-5500.  
IF = 1.151 (2011)
16. HILL, M. - PAŘÍZEK, Antonín - JIRÁSEK, Jan Ev. - JIRKOVSKÁ, Marie - VELIKOVÁ, M. - DUŠKOVÁ, M. - KLÍMKOVÁ, Michaela - PAŠKOVÁ, Andrea - ŽIŽKA, Zdeněk - GERMANOVÁ, Anna - KOUCKÝ, Michal - KALOUSOVÁ, Marta - STÁRKA, L.. Is Maternal Progesterone Actually Independent of the Fetal Steroids?. *Physiological Research*. 2010, **59**(2), 211-224. ISSN 0862-8408.  
IF = 1.646 (2010)
17. **KOUCKÝ, Michal** - GERMANOVÁ, Anna - KALOUSOVÁ, Marta - HILL, M - CINDROVÁ-DAVIES, T - PAŘÍZEK, Antonín - ŠVARCOVÁ, Jana - ZIMA, Tomáš - HÁJEK, Zdeněk. Low maternal serum matrix metalloproteinase (MMP)-2 concentrations are associated with preterm labor and fetal inflammatory response. *Journal of Perinatal Medicine*. 2010, **38**(6), 589-596. ISSN 0300-5577.  
IF = 1.871 (2010)
18. GERMANOVÁ, Anna - KOUCKÝ, Michal - HÁJEK, Zdeněk - PAŘÍZEK, Antonín - ZIMA, Tomáš - KALOUSOVÁ, Marta. Soluble receptor for advanced glycation end

products in physiological and pathological pregnancy. *Clinical Biochemistry*. 2010, **43**(4-5), 442-446. ISSN 0009-9120.  
IF = 2.043 (2010)

19. HÁJEK, Zdeněk - GERMANOVÁ, Anna - KOUCKÝ, Michal - ZIMA, Tomáš - KOPECKÝ, Pavel - VÍTKOVÁ, Marie - PAŘÍZEK, Antonín - KALOUSOVÁ, Marta. Detection of feto-maternal infection/inflammation by the soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE): results of pilot study. *Journal of Perinatal Medicine*. 2008, **36**(5), 399-404. ISSN 0300-5577.  
IF = 1.234 (2008)

## 1. Práce v recenzovaných časopisech

1. ČERNOHORSKÁ, Pavlína - VITÁSKOVÁ, Hana - KOKRDOVÁ, Zuzana - HÁJEK, Zdeněk - KOUCKÝ, Michal - PAŘÍZEK, Antonín. Cerclage - historie a současnost. *Česká gynekologie*. 2019, **84**(1), 55-60. ISSN 1210-7832.
2. DUDÁŠOVÁ, Julie - ŠIMJÁK, Patrik - KOUCKÝ, Michal - PAŘÍZEK, Antonín. Současné možnosti predikce předčasného porodu. *Česká gynekologie*. 2019, **84**(5), 355-360. ISSN 1210-7832.
3. KACEROVSKÝ, Marian - KOKRDOVÁ, Zuzana - KOUCKÝ, Michal - KŘEPELKA, Petr - LAMBERSKÁ, Tereza - MAŠATA, Jaromír - MĚCHUROVÁ, Alena - PAŘÍZEK, Antonín - SMÍŠEK, Jan - ŠIMJÁK, Patrik - VELEBIL, Petr. Spontánní předčasný porod. Doporučený postup. *Česká gynekologie*. 2017, **82**(2), 160-165. ISSN 1210-7832.
4. HRBÁČKOVÁ, Hana - KOUCKÝ, Michal - MALÍČKOVÁ, Karin - ČERNÝ, Andrej - GÁBOROVÁ, Eva - KOPŘIVOVÁ, Helena - HINĎOŠ, Miroslav. Úloha T-regulačních lymfocytů v patogenezi předčasného porodu. *Česká gynekologie*. 2017, **82**(6), 487-490. ISSN 1210-7832.
5. KACEROVSKÝ, Marian - KOKRDOVÁ, Zuzana - KOUCKÝ, Michal - KŘEPELKA, Petr - LAMBERSKÁ, Tereza - MAŠATA, Jaromír - MĚCHUROVÁ, Alena - PAŘÍZEK, Antonín - SMÍŠEK, Jan - ŠIMJÁK, Patrik - VELEBIL, Petr. Předčasný odtok plodové vody před termínem porodu. Doporučený postup. *Česká gynekologie*. 2017, **82**(2), 166-167. ISSN 1210-7832.
6. **KOUCKÝ, Michal** - MALÍČKOVÁ, Karin - HRDÝ, Jiří - ČERNÝ, Andrej - HRBÁČKOVÁ, Hana - ŠIMJÁK, Patrik - PAŘÍZEK, Antonín. Úloha mateřské imunity a mikrobiomu ženy v patogenezi předčasného porodu. *Česká gynekologie*. 2017, **82**(5), 407-410. ISSN 1210-7832.
7. KOKRDOVÁ, Zuzana - PAŘÍZEK, Antonín - KOUCKÝ, Michal - PAŠKOVÁ, Andrea - BOUDOVÁ, Barbora. Septický šok v těhotenství na podkladě akutní pyelonefritidy. *Česká gynekologie*. 2016, **81**(4), 286-288. ISSN 1210-7832.
8. HÁJEK, Zdeněk - HORÁKOVÁ, Vladimíra - KOUCKÝ, Michal - DOKOUPILOVÁ, M. - PLAVKA, Richard - PAŘÍZEK, Antonín. Akutní, nebo expektační přístup u



předčasného porodu s předčasně odteklou plodovou vodou?. *Česká gynekologie*. 2012, **77**(4), 341-346. ISSN 1210-7832.

9. KLÍMKOVÁ, Michaela - PAŘÍZEK, Antonín - VELÍKOVÁ, M. - HILL, M. - PAŠKOVÁ, Andrea - ŽIŽKA, Zdeněk - KANCHEVA, R. - KALOUSOVÁ, Marta - KOUCKÝ, Michal - GERMANOVÁ, Anna - HÁJEK, Zdeněk - STÁRKA, L.. Progesteron a jeho neuroaktivní metabolity v mechanismu porodu.. *Česká gynekologie*. 2010, **75**(1), 9-15. ISSN 1210-7832.
10. **KOUCKÝ, Michal** - GERMANOVÁ, Anna - HÁJEK, Zdeněk - KALOUSOVÁ, Marta - KOPECKÝ, Pavel. Novinky v patofyziologii a managementu předčasného porodu. *Česká gynekologie*. 2009, **74**(1), 54-63. ISSN 1210-7832.
11. **KOUCKÝ, Michal** - GERMANOVÁ, Anna - HÁJEK, Zdeněk - PAŘÍZEK, Antonín - KALOUSOVÁ, Marta - KOPECKÝ, Pavel. Pathophysiology of preterm labour. *Prague Medical Report*. 2009, **110**(1), 13-24. ISSN 1214-6994.
12. **KOUCKÝ, Michal** - GERMANOVÁ, Anna - HÁJEK, Zdeněk - PAŘÍZEK, Antonín - KALOUSOVÁ, Marta - KOPECKÝ, Pavel. Prenatal and perinatal management of preterm labour.. *Prague Medical Report*. 2009, **110**(4), 269-277. ISSN 1214-6994.
13. **KOUCKÝ, Michal** — HÁJEK, Zdeněk — PAŘÍZEK, Antonín. Diagnostika a management infekce u předčasného porodu. *Česká gynekologie*, 2006, **71**(1), 6-13. ISSN: 1210-7832.

## 9 Seznam použité literatury

1. Vogel JP, Chawanpaiboon S, Moller AB, Watananirun K, Bonet M, Lumbiganon P. The global epidemiology of preterm birth. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018 Oct;52:3-12. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2018.04.003.
2. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *The Lancet*. 2008 Jan 5;371(9606):75-84. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60074-4.
3. Glover AV, Manuck TA. Screening for spontaneous preterm birth and resultant therapies to reduce neonatal morbidity and mortality: A review. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2018 Apr;23(2):126-132. doi: 10.1016/j.siny.2017.11.007.
4. Romero R, Dey SK, Fisher SJ. Preterm labor: one syndrome, many causes. *Science*. 2014 Aug 15;345(6198):760-5.
5. Prince AL, Antony KM, Chu DM, Aagaard KM. The microbiome, parturition, and timing of birth: more questions than answers. *J Reprod Immunol*. 2014 Oct;104-105:12-9
6. Ferreira LMR, Meissner TB, Tilburgs T, Strominger JL HLA-G: At the Interface of Maternal-Fetal Tolerance. *Trends Immunol*. 2017 Apr;38(4):272-286.
7. Kim CJ, Romero R, Chaemsaihong P, Kim JS. Chronic inflammation of the placenta: definition, classification, pathogenesis, and clinical significance. *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Oct;213(4 Suppl):S53-69.
8. Mor, G., Kwon, J.Y. Trophoblast-microbiome interaction: a new paradigm on immune regulation. *Am J Obstet Gynecol*, 2015, 213, 4 Suppl, s.131-7.
9. Nayak S, Welling J, Burd I. Maternal Immunomodulation Therapy for Prevention of Preterm Birth and Prematurity-Related Morbidity: The New Era of Immuno-Perinatology. *Curr Pharm Des* 2017;23(40):6125-31.
10. Rahimzadeh M, Norouzian M, Arabpour F, Naderi N Regulatory T-cells and preeclampsia: an overview of literature. *Expert Rev Clin Immunol*. 2016;12(2):209-27.
11. Gomez-Lopez N, Laresgoiti-Servitje E. T regulatory cells: regulating both term and preterm labor? *Immunol Cell Biol*. 2012 Nov;90(10):919-20.
12. Kacerovský M., Kokrdová Z., Koucký M., Křepelka P., Lamberská T., Mašata J., Měchurová A. (editor), Pařízek A. (editor), Smíšek J., Šimják P., Velebil P. Spontánní předčasný porod Doporučený postup. *Česká Gynekologie* 2017, 82, č. 2

13. American College of Obstetricians and Gynecologists; Committee on Practice Bulletins—*Obstetrics ACOG practice bulletin no. 127: Management of preterm labor*. *Obstet Gynecol*. 2012 Jun;119(6):1308-17.
14. Guillén Ú, Weiss EM, Munson D, Maton P, Jefferies A, Norman M, Naulaers G, Mendes J, Justo da Silva L, Zoban P, Hansen TW, Hallman M, Delivoria-Papadopoulos M, Hosono S, Albersheim SG, Williams C, Boyle E, Lui K, Darlow B, Kirpalani H. Guidelines for the Management of Extremely Premature Deliveries: A Systematic Review. *Pediatrics*. 2015 Aug;136(2):343-50.
15. ACOG Committee Opinion No 579: Definition of term pregnancy. 2013 Nov;122(5):1139-40.
16. Seri I, Evans J. Limits of viability: definition of the gray zone. *J Perinatol*. 2008 May;28 Suppl 1:S4-8. doi: 10.1038/jp.2008.42.
17. Barfield WD, Standard Terminology for Fetal, Infant, and Perinatal Deaths, Committee on fetus and newborn. *Pediatrics*. 2016; May;137(5). pii: e20160551. doi: 10.1542/peds.2016-0551
18. Kliegman RM, Behrman R, Jenson H, Stanton B. Nelson textbook of pediatrics. Germany: Elsevier Health Sciences; 2007. Cunningham F, Leveno K, Bloom S, Hauth J, Rouse D. Spong CY Williams Obstetrics. USA: The McGraw-Hill Companies, Inc. Medical Publishing Division; 2010.
19. Saigal S, Doyle LW. An overview of mortality and sequelae of preterm birth from infancy to adulthood. *The Lancet*. 2008;371(9608):261–9
20. Blencowe H, Cousens S, Oestergaard MZ, Chou D, Moller A-B, Narwal R, et al. National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications. *The Lancet*. 2012;379(9832):2162–72.
21. Zeitlin J, Szamotulska K, Drewniak N, Mohangoo A, Chalmers J, Sakkeus L, et al. Preterm birth time trends in Europe: a study of 19 countries. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2013;120(11):1356–65.
22. Martin JA, Hamilton BE, Ventura SJ, Osterman MJ, Wilson EC, Mathews T. Births: final data for 2010. *National vital statistics reports*. 2012;61(1):1–72
23. Beck S, Wojdyla D, Say L, Betran AP, Merialdi M, Requejo JH, et al. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bulletin of the World Health Organization*. 2010;88(1):31–8.

24. Winkvist A, Mogren I, Hogberg U . Familiar patterns in birth characteristics: Impact on individual and population risks. *Int J Epidemiol* 1998. 27:248 – 254
25. Menon R, Velez DR, Simhan H, Ryckman K, Jiang L, Thorsen P, Vogel I, Jacobsson B, Merialdi M, Williams SM, Fortunato SJ. Multilocus interactions at maternal tumor necrosis factor-alpha, tumor necrosis factor receptors, interleukin-6 and interleukin-6 receptor genes predict spontaneous preterm labor in European-American women. *Am J Obstet Gynecol*. 2006 Jun;194(6):1616-24.
26. Romero R, Chaiworapongsa T, Kuivaniemi H. Bacterial vaginosis, the inflammatory response and the risk of preterm birth: a role for genetic epidemiology in the prevention of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2004.190:1509 – 1519.
27. Strauss JF 3rd, Romero R, Gomez-Lopez N, Haymond-Thornburg H, Modi BP, Teves ME, Pearson LN, York TP, Schenkein HA Spontaneous preterm birth: advances toward the discovery of genetic predisposition *Am J Obstet Gynecol*. 2018 Mar;218(3):294-314.e2.
28. Hamilton BE, Martin JA, Ventura SJ. Births: Preliminary data for 2005. *Health E-Stats. Natl Vital Stat Rep* 2005. 54:1-17
29. Smith LK, Draper ES, Manktelow BN, et al. Socioeconomic inequalities in very preterm birth rates. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Educ* 2007. 92:F11-F14
30. Thompson JM, Irgens LM, Rasmussen S, Daltveit AK. Secular trends in socioeconomic status and the implications for preterm birth. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2006. 20:182-187
31. Kiecolt-Glaser JK, McGuire L, Robles TF, et al. Psychoneuroimmunology: Psychological influences on immune function and health. *J Consult Clin Psychology* 2002. 70:537-547
32. Ruiz RJR, Fullerton JC, Dudley DJM. The interrelationship of maternal stress, endocrine factors and inflammation on gestational length. *Obstet Gynecol Surv* 2003. 58:415-428
33. Hendler I, Goldenberg RL, Mercer BM, et al: Preterm Prediction Study: Association between maternal body mass index ( BMI ) and spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2005. 192:882-886
34. Torloni MR, Betrán AP, Daher S, Widmer M, Dolan SM, Menon R, Bergel E, Allen T, Merialdi M. Maternal BMI and preterm birth: a systematic review of the literature with meta-analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2009 Nov;22(11):957-70

35. Grieger JA, Grzeskowiak LE, Clifton VL. Preconception dietary patterns in human pregnancies are associated with preterm delivery. *J Nutr*. 2014 Jul;144(7):1075-80. doi: 10.3945/jn.114.190686.
36. Brantsæter AL, Englund-Ögge L, Haugen M, Birgisdottir BE, Knutsen HK, Sengpiel V, Myhre R5, Alexander J, Nilsen RM, Jacobsson B, Meltzer HM. Maternal intake of seafood and supplementary long chain n-3 poly-unsaturated fatty acids and preterm delivery. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2017 Jan 19;17(1):41
37. Myhre R, Brantsæter AL, Myking S, et al. Intake of probiotic food and risk of spontaneous preterm delivery. *Am J Clin Nutr*. 2011;93:151–7.
38. Bertelsen RJ, Brantsæter AL, Magnus MC, et al. Probiotic milk consumption in pregnancy and infancy and subsequent childhood allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133:165–71. e1–8
39. Smith LK, Draper ES, Evans TA, Field DJ, Johnson SJ, Manktelow BN, Seaton SE, Marlow N, Petrou S, Boyle EM. Associations between late and moderately preterm birth and smoking, alcohol, drug use and diet: a population-based case-cohort study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2015 Nov;100(6):F486-91.
40. Kyrklund-Blomberg NB, Cnattingius S. Preterm birth and maternal smoking: Risks related to gestational age and onset of delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1998. 179:1051
41. Albertsen K, Andersen A MN, Olsen J, et al. Alcohol consumption during pregnancy and the risk of preterm delivery. *Am J Epidemiol* 2004. 159:155-161
42. Zhang Q, Wang Y ,Xin X, Zhang Y, Liu D, Peng Z, He Y, Xu J, Ma X. Effect of folic acid supplementation on preterm delivery and small for gestational age births: A systematic review and meta-analysis. *Reprod Toxicol*. 2017 Jan;67:35-41.
43. Qin LL, Lu FG, Yang SH, Xu HL, Luo BA. Does Maternal Vitamin D Deficiency Increase the Risk of Preterm Birth: A Meta-Analysis of Observational Studies. *Nutrients*. 2016 May 20;8(5). pii: E301
44. Zhou SS, Tao YH, Huang K, Zhu BB, Tao FB2 Vitamin D and risk of preterm birth: Up-to-date meta-analysis of randomized controlled trials and observational studies. *Obstet Gynaecol Res*. 2017 Feb;43(2):247-256.
45. Knox Jr IC, Hoerner JK The role of infection in premature rupture of the membranes.*Am J Obstet Gynecol* 1950. 59:190-194

46. Offenbacher S, Boggess KA, Murtha AP, et al. Progressive periodontal disease and risk of very preterm delivery. *Obstet Gynecol* 2006. 107:29-36
47. Romero R, Sirtori M, Oyarzun E, Avila C, Mazor M, Callahan R, Sabo V, Athanassiadis AP, Hobbins JC. Infection and labor. V. Prevalence, microbiology, and clinical significance of intraamniotic infection in women with preterm labor and intact membranes *Am J Obstet Gynecol*. 1989 Sep;161(3):817-24.
48. Romero R, Roslansky P, Oyarzun E, Wan M, Emamian M, Novitsky TJ, Gould MJ, Hobbins JC. Labor and infection. II. Bacterial endotoxin in amniotic fluid and its relationship to the onset of preterm labor. *Am J Obstet Gynecol*. 1988 May;158(5):1044-9.
49. 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 Apr;73(4):576-82.
50. Romero R, Avila C, Santhanam U, Sehgal PB Amniotic fluid interleukin 6 in preterm labor. Association with infection. *J Clin Invest*. 1990 May;85(5):1392-400
51. Zhou X, Bent SJ, Schneider MG, Davis CC, Islam MR, Forney LJ. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. *Microbiology*. 2004 Aug;150(Pt 8):2565-73
52. Petricevic L, Domig KJ, Nierscher FJ, Sandhofer MJ, Fidesser M, Krondorfer I, Husslein P, Kneifel W, Kiss H. Characterisation of the vaginal Lactobacillus microbiota associated with preterm delivery. *Sci Rep*. 2014 May 30;4:5136
53. Petrova MI, Lievens E, Malik S, Imholz N, Lebeer S. Lactobacillus species as biomarkers and agents that can promote various aspects of vaginal health. *Front Physiol*. 2015 Mar 25;6:81.
54. Mašata J, Posilová M, Jedličková, A, Mašatová D, a kol. Modifikovaná klasifikace mikroskopického hodnocení poševních infekcí. *Česká Gynekologie*. 2010; 3(75): 1991–1208
55. Krohn MA, Thwin SS, Rabe LK, Brown Z, Hillier SL. Vaginal colonization by *Escherichia coli* as a risk factor for very low birth weight delivery and other perinatal complications. *J Infect Dis*. 1997 Mar;175(3):606-10.
56. Bianchi-Jassir F, Seale AC, Kohli-Lynch M, Lawn JE, Baker CJ, Bartlett L, Cutland C, Gravett MG, Heath PT, Ip M, Le Doare K, Madhi SA, Saha SK, Schrag S, Sobanjo-Ter Meulen A, Vekemans J, Rubens CE. Preterm Birth Associated With Group B Streptococcus Maternal Colonization Worldwide: Systematic Review and

Meta-analyses. *Clin Infect Dis*. 2017 Nov 6;65(suppl\_2):S133-S142

57. Flenady V, Hawley G, Stock OM, Kenyon S, Badawi N. Prophylactic antibiotics for inhibiting preterm labour with intact membranes. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 Dec 5;(12):CD000246
58. Ohlsson A, Shah VS. Intrapartum antibiotics for known maternal Group B streptococcal colonization. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014 Jun 10;(6):CD007467.
59. Comunián-Carrasco G, Peña-Martí GE, Martí-Carvajal AJ. Antibiotics for treating gonorrhoea in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018 Feb 21;2:CD011167.
60. Donders GG, Desmyter J, De Wet DH, et al. The association of gonorrhoea and syphilis with premature birth and low birth weight. *Genitourin Med* 1993. 69:98-101
61. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosis bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol* 1991. 29:297-301
62. Brocklehurst P, Gordon A, Heatley E, Milan SJ. Antibiotics for treating bacterial vaginosis in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 Jan 31;(1):CD000262.
63. Okun N, Gronau KA, Hannah ME. Antibiotics for bacterial vaginosis or *Trichomonas vaginalis* in pregnancy. A systematic review. *Obstet Gynecol* 2005.105:857-868
64. Behrman RE, Stith Butler . 2007. Institute of Medicine Committee on Understanding Preterm Birth and Assuring Healthy Outcomes. Preterm Birth: Causes, Consequences, and Prevention. 2007. Washington, DC: National Academies Press. 792s.
65. Mercer BM, Goldenberg RL, Moawad A, et al. The Preterm Prediction Study: Effect of gestational age and cause of preterm birth on subsequent pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1999. 181:1216-1221
66. Lin PJ: Reproductive outcomes in women with uterine anomalies. *J Womens Health* 2004.13:33- 39
67. Jakobsson M, Gissler M, Sainio S, et al. Preterm delivery after surgical treatment for cervical intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol* 2007. 109:309-313
68. Moreau C, Kaminski M, Ancel PY, EPIPAGE Group , et al. Previous induced abortions and the risk of very preterm delivery: Results of the EPIPAGE study. *BJOG* 2005. 112:430-437
69. Yang J, Hartmann KE, Savitz DA, et al. Vaginal bleeding during pregnancy and preterm birth. *Am J Epidemiol* 2004;160:118-125

70. Helmerhorst FM, Perquin DA, Donker D, et al. Perinatal outcome of singletons and twins after assisted conception: A systematic review of controlled studies. *BMJ* 2004. 328:261
71. Dunietz GL, Holzman C, Zhang Y, Li C, Todem D, Boulet SL, McKane P, Kissin DM, Copeland G, Bernson D, Diamond MP. Assisted reproduction and risk of preterm birth in singletons by infertility diagnoses and treatment modalities: a population-based study. *J Assist Reprod Genet.* 2017 Nov;34(11):1529-1535. doi: 10.1007/s10815-017-1003-6.
72. Ombelet W, Martens G, De Sutter P, et al. Perinatal outcome of 12 021 singleton and 3108 twin births after non-IVF assisted reproduction: A cohort study. *Hum Reprod* 2006. 21:1025- 1032
73. El-Toukhy T, Bhattacharya S, Akande VA on behalf of the Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Multiple Pregnancies Following Assisted Conception. Scientific Impact Paper No. 22. *BJOG* 2018
74. Stock S, Norman J. Preterm and term labour in multiple pregnancies *Semin Fetal Neonatal Med.* 2010 Dec;15(6):336-41. doi: 10.1016/j.siny.2010.06.006.
75. Romero R, Lockwood Ch. 2009. Overview of the Mechanisms of Labor. In Creasy RK, Resnik E. Iams et al: *Maternal – Fetal Medicine. Principles and Practice*, 6th edition. 2009. Philadelphia: Saunders Elsevier.
76. Romero R, Kuivaniemi H, Tromp G. Functional genomics and proteomics in term and preterm parturition. *J Clin Endocrinol Metab* 2002. 87:2431 – 2434
77. Flint APF, Anderson ABM, Steele PA, et al. The mechanism by which fetal cortisol controls the onset of parturition in the sheep. *Bioch Soc Trans* 1975. 3:1189 – 1194
78. Liggins GC, Thorburn GD. 1994. Initiation of parturition. In Lamming GE: *Marshall's Physiology of Reproduction*. London. Chapman and Hall. 1994. 1362s.
79. Ravanos K, et al. Factors implicated in the initiation of human parturition in term and preterm labor: a review. *Gynecol Endocrinol.* 2015. PMID: 26303116
80. Hill M, Pašková A, Kančeva R, Velíková M, Kubátová J, Kancheva L, Adamcová K, Mikešová M, Žižka Z, Koucký M, Šarapatková H, Kačer V, Matucha P, Meloun M, Pařízek A. Steroid profiling in pregnancy: a focus on the human fetus. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014 Jan;139:201-22. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.03.008..
81. Hill M, Pařízek A, Jirásek JE, Jirkovská M, Velíková M, Dusková M, Klímková M, Pašková A, Žižka Z, Germanová A, Koucký M, Kalousová M, Stárka L. Is maternal



- progesterone actually independent of the fetal steroids? *Physiol Res.* 2010;59(2):211-24.
82. Romero R, Espinoza J, Mazor M, et al. 2004. The preterm parturition syndrome . In: Critchely H, Bennett P, Thornton S. Preterm Birth. 2004. London: RCOG Press. 2004, s.28-60
  83. Villar J, Papageorghiou AT, Knight HE, Gravett MG, Iams J, Waller SA, Kramer M, Culhane JF, Barros FC, Conde-Agudelo A, Bhutta ZA, Goldenberg RL The preterm birth syndrome: a prototype phenotypic classification. *Am J Obstet Gynecol.* 2012 Feb;206(2):119-23.
  84. Barros FC, Papageorghiou AT, Victora CG, Noble JA, Pang R, Iams J, Cheikh Ismail L, Goldenberg RL, Lambert A, Kramer MS, Carvalho M, Conde-Agudelo A, Jaffer YA, Bertino E, Gravett MG, Altman DG, Ohuma EO, Purwar M, Frederick IO, Bhutta ZA, Kennedy SH, Villar J; International Fetal and Newborn Growth Consortium for the 21st Century The distribution of clinical phenotypes of preterm birth syndrome: implications for prevention. *JAMA Pediatr.* 2015 Mar;169(3):220-9.
  85. Haddad R, Tromp G, Kuivaniemi H, et al. Spontaneous labor at term is characterized by a genomic signature of acute inflammation in chorioamniotic membranes but not in the systemic circulation. *Am J Obstet Gynecol* 2006. 195:394.e1-24
  86. Bollapragada S, Youssef R, Jordan F , Greer I. Norman J., Nelson S Term labor is associated with a core inflammatory response in human fetal membranes, myometrium, and cervix *Am J Obstet Gynecol.* 2009 Jan;200(1):104.e1-11
  87. Rinaldi S, Hutchinson SL, Rossi AG, , Norman JE- Anti-inflammatory mediators as physiological and pharmacological regulators of parturition *Expert Rev Clin Immunol.*, 7 (2011), pp. 675-696
  88. Ley, K. 2001. History of inflammation research. In Lee K.,ed.Physiology of Inflammation. New York:Oxford University Press. 2001. s.1-10
  89. Šimák J. 2000. Zánět jako obranný a autoagresivní fenomén. In Obecná patologická fyziologie. Nečas E.a spolupracovníci. 2000. Praha: Nakladatelství Karolinum. s.129 – 149
  90. Romero R, Espinoza J, Gonçalves LF, Kusanovic JP, Friel LA, Nien JK. Inflammation in preterm and term labour and delivery. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2006 Oct;11(5):317-26.
  91. Yang, Han Z, Oppenheim JJ. Alarmins and immunity. *Immunol Rev.* 2017 Nov;280(1):41-56.
  92. Rubartelli A, Lotze MT (October 2007). "Inside, outside, upside down: damage-associated molecular-pattern molecules (DAMPs) and redox". *Trends Immunol.* 28

- (10): 429–36.
93. Mahla,RS. Sweeten PAMPs: Role of Sugar Complexed PAMPs in Innate Immunity and Vaccine Biology. *Front Immunol*. 2013 ;4:248.
  94. Kumar, H, Kawai, T, Akira, S. Pathogen Recognition by the Innate Immune System. *International Reviews of Immunology*. 2011-01-01, s. 16–34
  95. Romero R, Espinoza J, Goncalves LF et al.The role of inflammation and infection in preterm birth. *Semin Reprod Med* 2007 25:21 – 39
  96. Christiaens I, Zaragoza DB, Guilbert L, Robertson SA, Mitchel BF, Olson DM. Inflammatory process in preterm and term parturition. *Journal of Reproductive Immunology* 2008. 79:50- 57
  97. Wang M, Zhang Y, Chen Y, Zhang L, Lu X, Chen Z. Mannan-binding lectin regulates dendritic cell maturation and cytokine production induced by lipopolysaccharide. *BMC Immunol*. 2011 Jan 1;12:1. doi: 10.1186/1471-2172-12-1.
  98. Krikun G, Lockwood CJ, Abrahams VM, et al. Expression of toll-like receptors in the human decidua. *Histol Histopathol* 2007. 22:847-854
  99. Romero R, Espinoza J, Hassan S, et al. Soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) and endogenous secretory RAGE (esRAGE) in amniotic fluid: modulation by infection and inflammation. *J Perinat Med* 2008. 36:388–398
  100. Thaxton JE, Nevers TA, Sharma S. TLR-mediated preterm birth in response to pathogenic agents. *Infect Dis Obstet Gynecol* . 2010;378472.
  101. Romero R, Chaiworapongsa T, Alpay Savasan Z, Xu Y, Hussein Y, Dong Z, Kusanovic JP, Kim CJ, Hassan SS. Damage-associated molecular patterns (DAMPs) in preterm labor with intact membranes and preterm PROM: a study of the alarmin HMGB1. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2011 Dec;24(12):1444-55.
  102. Gomez-Lopez N, Romero R, Plazyo O, Panaitescu B, Furcron AE, Miller D, Roumayah T, Flom E, Hassan SS. Intra-Amniotic Administration of HMGB1 Induces Spontaneous Preterm Labor and Birth. *Am J Reprod Immunol*. 2016 Jan;75(1):3-7.
  103. Nathanielsz P, Honnebier M. 1992. Myometrial function. In Drife J, Calder A: Prostaglandins and the Uterus. 1992 .London. Springer-Verlag..161-176
  104. Hsu HW, Figueroa JP, Honnebier MB , et al. Power spectrum analysis of myometrial electromyogram and intrauterine pressure changes in pregnant rhesus monkey in late gestation.*Am J Obstet Gynecol* 1989, 161:567 – 473

105. Hall, JE , Guyton AC. Textbook of Medical Physiology. 12. vydání. Philadelphia : Saunders Elsevier, 2011. ISBN 978-1-4160-4574-8.
106. Graham D, Clarke CL. Physiological Action of Progesterone in Target Tissues. *Endocrine Reviews* 1997. 18:502-519
107. Nathanielsz P, Poore E, Brodide A. et al. 1987. Update of molecular events of myometrial activity during pregnancy. In Nathanielsz P, Parer J: Research in Perinatal Medicine. 1987. Ithaca. NY: Perinatology. s.111
108. Romero R, Avila C, Sepulveda W et al. 1993. The role of systemic and intrauterine infection in preterm labor. In Fuchs A, Fuchs F, Stubblefield P. Preterm Birth : Causes, Prevention, and Management. 1993. NY: McGraw-Hill, s.97 – 136
109. Chan EC, Fraser S, Yin S , et al. Human myometrial genes are differentially expressed in labor: A suppression subtractive hybridization study. *J Clin Endocrinol Metab* 2007. 87:2435 – 2441
110. Keski-Nisula LT, Aalto ML, Kirkinen PP, Kosma VM, Heinonen ST. Myometrial inflammation in human delivery and its association with labor and infection. *Am J Clin Pathol.* 2003 Aug;120(2):217-24
111. Singh N, Herbert B, Sooranna GR, Orsi NM, Edey L, Dasgupta T, Sooranna SR, Yellon SM, Johnson MR. Is myometrial inflammation a cause or a consequence of term human labour? *J Endocrinol.* 2017 Oct;235(1):69-83.
112. Word RA, Li XH, Hnat M, Carrick K. Dynamics of cervical remodeling during pregnancy and parturition: mechanisms and current concepts. *Semin Reprod Med.* 2007 Jan;25(1):69-79.
113. Holt R, Timmons BC, Akgul Y et al. The molecular mechanisms of cervical ripening differ between term and preterm birt. *Endocrinology* 2011. 152:1036-1046
114. Timmons BC, Mitchell SM, Gilpin C, Mahendroo MS. Dynamic changes in the cervical epithelial tight junction complex and differentiation occur during cervical ripening and parturition. *Endocrinology* 2007.148:1278 – 1287
115. Liggins G. 1981. Cervical ripening as an inflammatory reaction. In Ellwood D, Anderson A : The Cervix in Pregnancy and Labor: Clinical and Biochemical Investigations. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1981 .s.103 – 122
116. Hassan SS, Romero R, Haddad R, et al. The transcriptome of the uterine cervix before and after spontaneous term parturition. *Am J Obstet Gynecol* 2006. 195:778 – 786

117. Gonzalez JM, Franzke CW, Yang F, Romero R, Girardi G. Complement activation triggers metalloproteinases release inducing cervical remodeling and preterm birth in mice. *Am J Pathol*. 2011 Aug;179(2):838-49.
118. Roth J, Vogl T, Sorg C, et al. Phagocyte-specific S100 proteins:A novel group of proinflammatory molecules. *Trends Immunol* 2003. 24:155 – 158
119. Schütze S, Wiegmann K, Machleidt T, Krönke M. TNF-induced activation of NF-kappa B. *Immunobiology*. 1995 Jul;193(2-4):193-203.
120. Van der Burg B, Van der Saarg PT . Nuclear factor kappa B/steroid hormone receptor interactions as a functional basis of anti-inflammatory action of steroids in reproductive organs. *Mol Hum Reprod* 1996. 2:433 – 438
121. McLaren, J., Malak, T.M., and Bell, S.C. Structural characteristics of term human fetal membranes prior to labor: identification of an area of altered morphology overlying the cervix. *Hum Reprod*. 1999; 14: 237–241
122. Behnia F, Taylor BD, Woodson M, Kacerovsky M, Hawkins H, Fortunato SJ, Saade GR, Menon R. Chorioamniotic membrane senescence: a signal for parturition? *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Sep;213(3):359.e1-16.
123. Lockwood CJ, Senyei AE, Dische MR, et al. Fetal fibronectin in cervical and vaginal secretions as a predictor of preterm delivery ? *N Engl J Med* 1991. 325:669-674
124. Iams JD, Casal D, McGregor JA, et al. Fetal fibronectin improves the accuracy of diagnosis of preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1995. 173:141-145
125. Bell SC, Meade EA. 2004. Fetal membrane rupture. In: Critchley H, Bennett P, Thornton S, ed. *Preterm Birth*. 2004. London: RCOG Press. s.195-212
126. Gomez-Lopez N, Romero R, Plazyo O, Schwenkel G, Garcia-Flores V, Unkel R, Xu Y, Leng Y, Hassan SS3, Panaitescu B, Cha J, Dey SK. Preterm labor in the absence of acute histologic chorioamnionitis is characterized by cellular senescence of the chorioamniotic membranes. *Am J Obstet Gynecol*. 2017 Nov;217(5):592.e1-592.e17.
127. Menon R, Mesiano S, Taylor RN. Programmed Fetal Membrane Senescence and Exosome-Mediated Signaling: A Mechanism Associated With Timing of Human Parturition. *Front Endocrinol* . 2017 Aug 17;8:196
128. Menon R, Richardson LS, Lappas M. Fetal membrane architecture, aging and inflammation in pregnancy and parturition. *Placenta*. 2018 Nov 10. pii: S0143-4004(18)31060-9
129. Bredeson S, Papaconstantinou J, Deford JH, Kechichian T, Syed TA, Saade GR, Menon R. HMGB1 promotes a p38MAPK associated non-infectious inflammatory response pathway in human fetal membranes. *PLoS One*. 2014 Dec 3;9(12):e113799

130. Cappelletti M, Della Bella S, Ferrazzi E, Mavilio D, Divanovic S. Inflammation and preterm birth. *J Leukoc Biol.* 2016 Jan;99(1):67-78.
131. Romero R, Miranda J, Chaemsaihong P, Chaiworapongsa T, Kusanovic JP, Dong Z, Ahmed AI, Shaman M, Lannaman K, Yoon BH, Hassan SS, Kim CJ, Korzeniewski SJ, Yeo L, Kim YM. Sterile and microbial-associated intra-amniotic inflammation in preterm prelabor rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015 Aug;28(12):1394-409
132. Romero R, Miranda J, Chaiworapongsa T, et al. A novel molecular microbiologic technique for the rapid diagnosis of microbial invasion of the amniotic cavity and intra-amniotic infection in preterm labor with intact membranes. *Am J Reprod Immunol.* 2014;71:330–358
133. Yoon BH, Romero R, Moon JB, et al. Clinical significance of intra-amniotic inflammation in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;185:1130–1136
134. Kim KW, Romero R, Park HS, et al. A rapid matrix metalloproteinase-8 bedside test for the detection of intraamniotic inflammation in women with preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;197:292. e291-295.
135. Musilova I, Andrys C, Drahosova M, Soucek O, Stepan M, Bestvina T, Spacek R, Jacobsson B, Cobo T, Kacerovsky M. Intraamniotic inflammation and umbilical cord blood interleukin-6 concentrations in pregnancies complicated by preterm prelabor rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017 Apr;30(8):900-910
136. Musilova I, Bestvina T, Hudeckova M, Michalec I, Cobo T, Jacobsson B, Kacerovsky M. Vaginal fluid IL-6 concentrations as a point-of-care test is of value in women with preterm PROM. *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Jul 9:S0002-9378(16)30438-0
137. Cobo T, Vergara A, Collado MC, Casals-Pascual C, Herreros E, Bosch J, Sánchez-García AB, López-Parellada R, Ponce J, Gratacós E. Characterization of vaginal microbiota in women with preterm labor with intra-amniotic inflammation. *Sci Rep.* 2019 Dec 12;9(1):18963.
138. Buhimschi CS, Buhimschi IA, Abdel-Razeq S, Rosenberg VA, Thung SF, Zhao G, Wang E, Bhandari V. Proteomic biomarkers of intra-amniotic inflammation: relationship with funisitis and early-onset sepsis in the premature neonate. *Pediatr Res.* 2007 Mar;61(3):318-24
139. Oh KJ, Romero R, Park JY, Hong JS, Yoon BH. The earlier the gestational age, the greater the intensity of the intra-amniotic inflammatory response in women with preterm premature rupture of membranes and amniotic fluid infection by *Ureaplasma* species. *J Perinat Med.* 2019 Jul 26;47(5):516-527
140. Gomez R, Romero R, Ghezzi F, Yoon BH, Mazor M, Berry SM. The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 1998 Jul;179(1):194-202

141. Gotsch F, Romero R, Kusanovic JP, Mazaki-Tovi S, Pineles BL, Erez O, Espinoza J, Hassan SS The fetal inflammatory response syndrome. *Clin Obstet Gynecol*. 2007 Sep;50(3):652-83.
142. Higgins RD, Saade G, Polin RA, Grobman WA, Buhimschi IA, Watterberg K, Silver RM, Raju TN, Chorioamnionitis Workshop Participants Evaluation and Management of Women and Newborns With a Maternal Diagnosis of Chorioamnionitis: Summary of a Workshop. *Obstet Gynecol*. 2016 Mar;127(3):426-36
143. Adams Waldorf KM, Singh N, Mohan AR, Young RC, Ngo L, Das A, Tsai J, Bansal A, Paoletta L, Herbert BR, Sooranna SR, Gough GM, Astley C, Vogel K, Baldessari AE, Bammler TK, MacDonald J, Gravett MG, Rajagopal L, Johnson MR. Uterine overdistention induces preterm labor mediated by inflammation: observations in pregnant women and nonhuman primates *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Dec;213(6):830.e1-830.e19
144. Bytautiene E, Vedernikov YP, Saade GR, Romero R, Garfield RE. Endogenous mast cell degranulation modulates cervical contractility in the guinea pig. *Am J Obstet Gynecol*. 2002;186:438–445
145. Trønnes H, Wilcox AJ, Markestad T, Tollånes MC, Lie RT, Moster D. Associations of maternal atopic diseases with adverse pregnancy outcomes: a national cohort study. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2014 Nov;28(6):489-97
146. Murphy VE, Namazy JA, Powell H, Schatz M, Chambers C, Attia J, Gibson PG. A meta-analysis of adverse perinatal outcomes in women with asthma. *BJOG*. 2011 Oct;118(11):1314-23
147. Lockwood CJ. Pregnancy-associated changes in the hemostatic system. *Clin Obstet Gynecol* 2006 Dec;49(4):836-843.
148. Del Turco S, Basta G, Lazzerini G, Chancharme L, Lerond L, De Caterina R. Involvement of the TP receptor in TNF- $\alpha$ -induced endothelial tissue factor expression. *Vascul Pharmacol*. 2014 Aug;62(2):49-56.
149. Lockwood CJ, Krikun G, Runic R, Schwartz LB, Mesia AF, Schatz F. Progestin-epidermal growth factor regulation of tissue factor expression during decidualization of human endometrial stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2000 Jan;85(1):297-301
150. Brenner B. Haemostatic changes in pregnancy. *Thromb Res* 2004;114(5–6):409-414.
151. Arias F, Romero R, Joist H et al. Thrombophilia: a mechanism of disease in women with adverse pregnancy outcome and thrombotic lesions in the placenta. *J Matern Fetal Neonatal Med* 1998. 7: 277 – 286
152. Robertson L, Wu O, Langhorne P, Twaddle S, Clark P, Lowe GD, Walker ID, Greaves M, Brenkel I, Regan L, Greer IA, Thrombosis: Risk and Economic Assessment of Thrombophilia Screening (TREATS) Study Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. *Br J Haematol*. 2006;132(2):171

153. Hemsworth EM, O'Reilly AM, Allen VM, Kuhle S, Brock JK; Knowledge Synthesis Group on Determinants of Preterm/LBW Births. Association Between Factor V Leiden Mutation, Small for Gestational Age, and Preterm Birth: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Obstet Gynaecol Can.* 2016 Oct;38(10):897-908
154. Clowse ME, Jamison M, Myers E, James AH. A national study of the complications of lupus in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2008 Aug;199(2):127.e1-6
155. Branch DW, Khamashta MA. Antiphospholipid syndrome: obstetric diagnosis, management, and controversies. *Obstet Gynecol.* 2003 Jun;101(6):1333-44
156. Velásquez M, Rojas M, Abrahams VM, Escudero C, Cadavid Á. Mechanisms of Endothelial Dysfunction in Antiphospholipid Syndrome: Association With Clinical Manifestations. *Front Physiol.* 2018 Dec 21;9:1840
157. Abrahams VM, Chamley LW, Salmon JE. Emerging Treatment Models in Rheumatology: Antiphospholipid Syndrome and Pregnancy: Pathogenesis to Translation. *Arthritis Rheumatol.* 2017 Sep;69(9):1710-1721
158. Levi M, van der Poll T, ten Cate H. Tissue factor in infection and severe inflammation. *Semin Thromb Hemost.* 2006 Feb;32(1):33-9
159. Slegtenhorst BR, Dor FJ, Rodriguez H, Voskuil FJ, Tullius SG. Ischemia/reperfusion Injury and its Consequences on Immunity and Inflammation. *Curr Transplant Rep.* 2014 Sep 1;1(3):147-154.
160. Gill R, Tsung A, Billiar T. Linking oxidative stress to inflammation: Toll-like receptors. *Free Radic Biol Med* 2010. 48: 1121 – 1132
161. Salzano S, Checconi P, Hanschmann EM, Lillig CH, Bowler LD, Chan P, Vaudry D, Mengozzi M, Coppo L, Sacre S, Atkuri KR, Sahaf B, Herzenberg LA, Herzenberg LA, Mullen L, Ghezzi P. Linkage of inflammation and oxidative stress via release of glutathionylated peroxiredoxin-2, which acts as a danger signal. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014 Aug 19;111(33):12157-62
162. Nath CA, Ananth CV, Smulian JC, Shen-Schwarz S, Kaminsky L; New Jersey-Placental Abruptio Study Investigators. Histologic evidence of inflammation and risk of placental abruptio. *Am J Obstet Gynecol.* 2007 Sep;197(3):319.e1-6
163. Pijnenborg R, Bland JM, Robertson WB, Brosens I. Uteroplacental arterial changes related to interstitial trophoblast migration in early human pregnancy. *Placenta* 1983 Oct-Dec;4(4):397-413
164. Brosens IA, Robertson WB, Dixon HG. The role of the spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia. *Obstet Gynecol Annu* 1972;1:177-191.

165. 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 Oct;189(4):1063-1069
166. 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 Nov;187(5):1137-1142
167. Brosens I, Pijnenborg R, Vercruyse L, Romero R. The "Great Obstetrical Syndromes" are associated with disorders of deep placentation. *Am J Obstet Gynecol* 2011 Mar; 204(3):193-201.
168. Csapo AI, Pulkkinen M. Indispensability of the human corpus luteum in the maintenance of early pregnancy. Luteectomy evidence. *Obstet Gynecol Surv* 1978. 33:69-81
169. Peyron R, Aubeny E, Targosz V, et al. Early termination of pregnancy with mifepristone (RU 486) and the orally active prostaglandin misoprostol. *N Engl J Med* 1993.328:1509-1513
170. Bygdeman M, Swahn ML. Progesterone receptor blockage. Effect on uterine contractility and early pregnancy. *Contraception*. 1985 Jul;32(1):45-51
171. Soloff MS, Jeng YJ, Izban MG, Sinha M, Luxon BA, Stammes SJ, England SK. Effects of progesterone treatment on expression of genes involved in uterine quiescence. *Reprod Sci*. 2011 Aug;18(8):781-97.
172. Norwitz ER, Robinson JN, Challis JRG. The control of labor. *N Engl J Med* 1999. 341:660-667
173. Mesiano S, Wang Y, Norwitz ER. Progesterone receptors in the human pregnancy uterus: do they hold the key to birth timing? *Reprod Sci*. 2011 Jan;18(1):6-19
174. Thomas P, Pang Y (2012). "Membrane progesterone receptors: evidence for neuroprotective, neurosteroid signaling and neuroendocrine functions in neuronal cells". *Neuroendocrinology*. 96 (2): 162–71
175. Pieber D, Allport VC, Hills F, et al. Interactions between progesterone receptor isoforms in myometrial cells in human labor. *Mol Hum Reprod* 2001. 7:875-879
176. Tan H, Yi L, Rote NS, Hurd WW, Mesiano S. Progesterone receptor-A and -B have opposite effects on proinflammatory gene expression in human myometrial cells: implications for progesterone actions in human pregnancy and parturition. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 May;97(5):E719-30
177. Haluska GJ, Wells TR, Hirst JJ, et al. Progesterone receptor localization and isoforms in myometrium, decidua, and fetal membranes from rhesus macaques: Evidence for functional progesterone withdrawal at parturition. *J Soc Gynecol Investig* 2002. 9:125-136



178. Brubaker D, Barbaro A, R Chance M, Mesiano S. A dynamical systems model of progesterone receptor interactions with inflammation in human parturition. *BMC Syst Biol*. 2016 Aug 19;10(1):79
179. Areia A, Vale-Pereira S, Alves V, Rodrigues-Santos P, Moura P, Mota-Pinto A. Membrane progesterone receptors in human regulatory T cells: a reality in pregnancy. *BJOG*. 2015 Oct;122(11):1544-50.
180. Areia A, Vale-Pereira S, Alves V, Rodrigues-Santos P, Santos-Rosa M, Moura P, Mota-Pinto A. Can membrane progesterone receptor  $\alpha$  on T regulatory cells explain the ensuing human labour? *J Reprod Immunol*. 2016 Feb;113:22-6.
181. Dressing GE, Goldberg JE, Charles NJ, Schwertfeger KL, Lange CA. Membrane progesterone receptor expression in mammalian tissues: a review of regulation and physiological implications. *Steroids*. 2011 Jan;76(1-2):11-7
182. Arck P, Hansen PJ, Mulac Jericevic B, Piccinni MP, Szekeres-Bartho J., Progesterone during pregnancy: endocrine-immune cross talk in mammalspecies and the role of stress. *Am J Reprod Immunol*. 2007.58, 268–279
183. Hickey, D.K., Patel, M.V., Fahey, J.V., Wira, C.R.,. Innate and adaptive immunityat mucosal surfaces of the female reproductive tract: stratification andintegration of immune protection against the transmission of sexuallytransmitted infections. *J Reprod Immunol* 2011, 88, 185–194.
184. Miko E, Halasz M, Jericevic-Mulac, B, Wicherek L, Arck P, Skret Magierlo J, Arato G, Rukavina D, Szekeres-Bartho J.. Progesterone-inducedblocking factor (PIBF) and trophoblast invasiveness. *J Reprod Immunol*. 2011, 90,50–57.
185. Szekeres-Bartho J, Polgar B. PIBF: the double edged sword. Pregnancy and tumor. *Am J Reprod Immunol*. 2010 Aug 1;64(2):77-86.
186. Szekeres-Bartho J, Polgar B, Kozma N, Miko E, Par G, Szereday L, Barakonyi A, Palkovics T, Papp O, Varga P. Progesterone-dependent immunomodulation. *Chem Immunol Allergy*. 2005;89:118-125.
187. Lachmann M, Gelbmann D, Kálmán E, Polgár B, Buschle M, Von Gabain A, Szekeres-Barthó J, Nagy E. PIBF (progesterone induced blocking factor) is overexpressed in highly proliferating cells and associated with the centrosome. *Int J Cancer*. 2004 Oct 20;112(1):51-60.
188. Hudić I, Stray-Pedersen B, Szekeres-Bartho J, Fatušić Z, Dizdarević-Hudić L, Tomić V, Polgar B, Hadžiefendić B, Fatušić J. Maternal serum progesterone-induced blocking factor (PIBF) in the prediction of preterm birth. *J Reprod Immunol*. 2015 Jun;109:36-40
189. Wu SP, DeMayo FJ. Progesterone Receptor Signaling in Uterine Myometrial Physiology and Preterm Birth. *Curr Top Dev Biol*. 2017;125:171-190.

190. Shah NM, Imami N, Johnson MR Progesterone Modulation of Pregnancy-Related Immune Responses. *Front Immunol*. 2018 Jun 20;9:1293.
191. Billington WD. The immunological problem of pregnancy: 50 years with the hope of progress. A tribute to Peter Medawar. *J Reprod Immunol*. 2003 Oct;60(1):1-11.
192. Loke YW, King A. Immunology of implantation. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2000;14:827–837.
193. Makrigiannakis A, Karamouti M, Drakakis P, Loutradis D, Antsaklis A. Fetomaternal immunotolerance. *Am J Reprod Immunol*. 2008 Dec;60(6):482-96.
194. O'Garra A, Vieira P. Regulatory T cells and mechanisms of immune system control. *Nat Med*. 2004;10(8):801–5
195. Togashi Y, Shitara K, Nishikawa H. Regulatory T cells in cancer immunosuppression - implications for anticancer therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2019 Jun;16(6):356-371.
196. Sakaguchi S. Regulatory T cells: key controllers of immunologic self-tolerance. *Cell*. 2000;101:455–8
197. Shevach EM. CD4+ CD25+ suppressor T cells: more questions than answers. *Nat Rev Immunol*. 2002;2:389–400
198. Read S, Powrie F. CD4 (+) regulatory T cells. *Curr Opin Immunol*. 2001;13:644–9.
199. Wood KJ, Sakaguchi S. Regulatory T cells in transplantation tolerance. *Nat Rev Immunol*. 2003;3:199–210
200. Sasaki Y, Sakai M, Miyazaki S, Higuma S, Shiozaki A, Saito S. Decidual and peripheral blood CD4+CD25+ regulatory T cells in early pregnancy subjects and spontaneous abortion cases. *Mol Hum Reprod*. 2004;10:347–53.
201. Rowe JH, Ertelt JM, Xin L, Way SS. Pregnancy imprints regulatory memory that sustains anergy to fetal antigen *Nature*. 2012 Oct 4;490(7418):102-6.
202. Salvany-Celades M, van der Zwan A, Benner M, Setrajcic-Dragos V, Bougleux Gomes HA, Iyer V, Norwitz ER, Strominger JL, Tilburgs T. Three Types of Functional Regulatory T Cells Control T Cell Responses at the Human Maternal-Fetal Interface. *Cell Rep*. 2019 May 28;27(9):2537-2547.e5.
203. Leber A, Teles A, Zenclussen AC. Regulatory T cells and their role in pregnancy. *Am J Reprod Immunol*. 2010 Jun;63(6):445-59
204. Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol*. 2010 Jun;63(6):601-10..
205. Prins JR, Boelens HM, Heimweg J, Van der Heide S, Dubois AE, Van Oosterhout AJ, Erwich JJ. Preeclampsia is associated with lower percentages of regulatory T cells in

- maternal *Hypertens Pregnancy*. 2009;28(3):300-11.
206. Winger EE, Reed JL. Low circulating CD4(+) CD25(+) Foxp3(+) T regulatory cell levels predict miscarriage risk in newly pregnant women with a history of failure. *Am J Reprod Immunol*. 2011 Oct;66(4):320-8.
  207. Steinborn A, Schmitt E, Kisielewicz A, Rechenberg S, Seissler N, Mahnke K, Schaier M, Zeier M, Sohn C. Pregnancy-associated diseases are characterized by the composition of the systemic regulatory T cell (Treg) pool with distinct subsets of Tregs. *Clin Exp Immunol*. 2012 Jan;167(1):84-98
  208. Xiong H, Zhou C, Qi G. Proportional changes of CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells in maternal peripheral blood during pregnancy and labor at term and preterm. *Clin Invest Med*. 2010 Dec 1;33(6):E422.
  209. Chiossone L, Dumas PY, Vienne M, Vivier E. Natural killer cells and other innate lymphoid cells in cancer. *Nat Rev Immunol*. 2018 Nov;18(11):671-688.
  210. Vivier E, Tomasello E, Baratin M, Walzer T, Ugolini S. Functions of natural killer cells. *Nat Immunol*. 2008 May;9(5):503-10
  211. Mor G, Cardenas I. The immune system in pregnancy: a unique complexity. *Am J Reprod Immunol*. 2010 Jun;63(6):425-33.
  212. Dekel N, Gnainsky Y, Granot I, Mor G. Inflammation and implantation. *Am J Reprod Immunol* 2010;63:17–21.
  213. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today* 1993;14:353–356
  214. Hanna J, Goldman-Wohl D, Hamani Y, Avraham I, Greenfield C, Natanson-Yaron S, Prus D, Cohen-Daniel L, Arnon TI, Manaster I, Gazit R, Yutkin V, Benharroch D, Porgador A, Keshet E, Yagel S, Mandelboim O. Decidual NK cells regulate key developmental processes at the human fetal-maternal interface. *Nat Med* 2006;12:1065–1074.
  215. Plaks V, Birnberg T, Berkutzki T, Sela S, BenYashar A, Kalchenko V, Mor G, Keshet E, Dekel N, Neeman M, Jung S. Uterine DCs are crucial for decidua formation during embryo implantation in mice. *J Clin Invest*. 2008 Dec;118(12):3954-65.
  216. Binqing Fu, Yonggang Zhou, Xiang Ni, Xianhong Tong, Xiuxiu Xu, Zhongjun Dong, Rui Sun, Zhigang Tian, Haiming Wei. Natural Killer Cells Promote Fetal Development through the Secretion of Growth-Promoting Factors. *Immunity*, 2017; 47 (6): 1100
  217. Croxatto, D, Vacca, P, Canegallo, F, Conte, R, Venturini, PL, Moretta, L, Mingari, MC, Stromal Cells from Human Decidua Exert a Strong Inhibitory Effect on NK Cell Function and Dendritic Cell Differentiation *PLoS One*. 2014; 9(2): e89006

218. Crome SQ, Wang AY, Levings MK. Translational mini-review series on Th17 cells: function and regulation of human T helper 17 cells in health and disease. *Clin Exp Immunol*. 2010 Feb;159(2):109-19.
219. Saito S. Cytokine network at the feto-maternal interface. *J Reprod Immunol*. 2000 Jul;47(2):87-103
220. Pongcharoen S, Supalap K. Interleukin-17 increased progesterone secretion by JEG-3 human choriocarcinoma cells. *Am J Reprod Immunol*. 2009 Apr;61(4):261-4.
221. Sakaguchi S Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunol*. 2005 Apr;6(4):345-52
222. Sarma JV, Ward PA. The complement system. *Cell Tissue Res*. 2011 Jan;343(1):227-35
223. Mold C, Gewurz H, Du Clos TW. Regulation of complement activation by C-reactive protein. *Immunopharmacology*. 1999 May;42(1-3):23-30
224. Hořejší, V, Bartůňková, J. *Základy imunologie*. 3. vydání. Praha : Triton, 2008. 280 s. ISBN 80-7254-686-4.
225. Tomaiuolo R, Ruocco A, Salapete C, Carru C, Baggio G, Franceschi C, Zinellu A, Vaupel J, Bellia C, Lo Sasso B, Ciaccio M, Castaldo G, Deiana L (March 2012). "Activity of mannose-binding lectin (MBL) in centenarians". *Aging Cell*. 11 (3): 394–400.
226. Stuart LM, Takahashi K, Shi L, Savill J, Ezekowitz RA. Mannose-binding lectin-deficient mice display defective apoptotic cell clearance but no autoimmune phenotype. *J Immunol*. 2005 Mar 15;174(6):3220-6.
227. Gadjeva M, Takahashi K, Thiel S. Mannan-binding lectin-a soluble pattern recognition molecule. *Mol Immunol*. 2004 Jun;41(2-3):113-21.
228. Brinkmann CR, Jensen L, Dagnæs-Hansen F, Holm IE, Endo Y, Fujita T, Thiel S, Jensenius JC, Degn SE. Mitochondria and the lectin pathway of complement. *J Biol Chem*. 2013 Mar 22;288(12):8016-27
229. Ogden CA, deCathelineau A, Hoffmann PR, Bratton D, Ghebrehiwet B, Fadok VA, Henson PM. C1q and mannose binding lectin engagement of cell surface calreticulin and CD91 initiates macropinocytosis and uptake of apoptotic cells. *J Exp Med*. 2001 Sep 17;194(6):781-95
230. Bulla R, Bossi F, Tedesco F. The complement system at the embryo implantation site: friend or foe? *Front Immunol*. 2012 Mar 19;3:55.
231. Bulla R, Bossi F, Agostinis C, Radillo O, Colombo F, De Seta F, Tedesco F. Complement production by trophoblast cells at the feto-maternal interface. *Journal of Reproductive Immunology*. 2009;82:119–25.

232. Agostinis C, Bossi F, Masat E, Radillo O, Tonon M, De Seta F, Tedesco F, Bulla R. MBL interferes with endovascular trophoblast invasion in pre-eclampsia. *Clinical & Developmental immunology*. 2012;2012:484321.
233. Bulla R, Agostinis C, Bossi F, Rizzi L, Debeus A, Tripodo C, Radillo O, De Seta F, Ghebrehiwet B, Tedesco F. Decidual endothelial cells express surface-bound C1q as a molecular bridge between endovascular trophoblast and decidual endothelium. *Mol Immunol*. 2008;45:2629–40.
234. Gonzalez, JM. Dong,Z. Romero, R, Girardi, G. Cervical Remodeling/Ripening at Term and Preterm Delivery: The Same Mechanism Initiated by Different Mediators and Different Effector Cells PLoS One. 2011; 6(11): e26877
235. Gonzalez, JM, Franzke, CW. Yang, F, Romero,R. Girardi, G. Complement Activation Triggers Metalloproteinases Release Inducing Cervical Remodeling and Preterm Birth in Mice Am J Pathol. 2011 Aug; 179(2): 838–849
236. Regal, JF, Gilbert, JS, Burwick, RM. The Complement System and Adverse Pregnancy Outcomes. *Mol Immunol*. 2015 Sep; 67(1): 56–70.
237. PrabhuDas,M, T, Bonney, E, Caron, K, Dey, S, Erlebacher, A, Fazleabas, A, Fisher, S, Golos, T, Matzuk, M, McCune, J, Mor,G, Schulz, L, Soares, M, Spencer, Strominger, J, Way,SS, and Yoshinaga, K. Immune mechanisms at the maternal-fetal interface: perspectives and challenges *Nat Immunol*. 2015 April ; 16(4): 328–334.
238. Arck PC, Hecher K Fetomaternal immune cross-talk and its consequences for maternal and offspring's health. *Nat Med*. 2013 May;19(5):548-56
239. Rapacz-Leonard A, Dąbrowska M, Janowski T. Major histocompatibility complex I mediates immunological tolerance of the trophoblast during pregnancy and may mediate rejection during parturition. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:579279
240. Holtan SG, Creedon DJ, Haluska P, Markovic SN. Cancer and pregnancy: parallels in growth, invasion, and immune modulation and implications for cancer therapeutic agents. *Mayo Clin Proc*. 2009 Nov;84(11):985-1000
241. Blaschitz A, Hutter H, Dohr G. HLA class I protein expression in the human placenta. *Early Pregnancy* (2001) 5(1):67–9
242. Gonen-Gross T, Goldman-Wohl D, Huppertz B, Lankry D, Greenfield C, Natanson-Yaron S, Hamani Y, Gilad R, Yagel S, Mandelboim O. Inhibitory NK receptor recognition of HLA-G: regulation by contact residues and by cell specific expression at the fetal-maternal interface. *PLoS One*. 2010 Jan 28;5(1):e8941
243. Hilton HG, Guethlein LA, Goyos A, Nemat-Gorgani N, Bushnell DA, Norman PJ, Parham P. Polymorphic HLA-C Receptors Balance the Functional Characteristics of KIR Haplotypes. *J Immunol*. 2015 Oct 1;195(7):3160-70

244. Moffett A, Colucci F. Co-evolution of NK receptors and HLA ligands in humans is driven by reproduction. *Immunol Rev.* 2015;267:283–297.
245. Papúchová H, Meissner TB, Li Q, Strominger JL, Tilburgs T. The Dual Role of HLA-C in Tolerance and Immunity at the Maternal-Fetal Interface. *Front Immunol.* 2019 Dec 9;10:2730.
246. Chazara O, Xiong S, Moffett A. Maternal KIR and fetal HLA-C: a fine balance. *J Leukoc Biol.* 2011 Oct;90(4):703-16.
247. Johnsen GM, Størvold GL, Drabbels JJM, Haasnoot GW, Eikmans M, Spruyt-Gerritse MJ, Alnæs-Katjavivi P, Scherjon SA, Redman CWG, Claas FHJ, Staff AC. The combination of maternal KIR-B and fetal HLA-C2 is associated with decidua basalis acute atherosclerosis in pregnancies with preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 2018 Sep;129:23-29.
248. Tilburgs T, Crespo ÂC, van der Zwan A, Rybalov B, Raj T, Stranger B, Gardner L, Moffett A, Strominger JL. Human HLA-G+ extravillous trophoblasts: Immune-activating cells that interact with decidual leukocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015 Jun 9;112(23):7219-24
249. Mellor AL, Sivakumar J, Chandler P, et al. Prevention of T cell-driven complement activation and inflammation by tryptophan catabolism during pregnancy. *Nature Immunology.* 2001;2(1):64–68.
250. Söderström K, Corliss B, Lanier LL, Phillips JH. CD94/NKG2 is the predominant inhibitory receptor involved in recognition of HLA-G by decidual and peripheral blood NK cells. *J Immunol.* 1997 Aug 1;159(3):1072-5.
251. Gomez-Lopez, N, StLouis,D, Lehr, M, Sanchez-Rodriguez, EN, Arenas-Hernandez, M. Immune cells in term and preterm labor *Cell Mol Immunol.* 2014 Nov; 11(6): 571–581.
252. Acar N, Ustunel I, Demir R. Uterine natural killer (uNK) cells and their missions during pregnancy: a review. *Acta Histochem.* 2011 Feb;113(2):82-91.
253. Blois SM, Alba Soto CD, Tometten M, Klapp BF, Margni RA, Arck PC. Lineage, maturity, and phenotype of uterine murine dendritic cells throughout gestation indicate a protective role in maintaining pregnancy. *Biol Reprod.* 2004;70:1018–1023
254. Schober, L., Radnai, D., Schmitt, E., Mahnke, K., Sohn, C., Steinborn, A., 2012. Term and preterm labor: decreased suppressive activity and changes in composition of the regulatory T-cell pool. *Immunol. Cell Biol.* 90 (10), 935–944
255. Kanaan SB, Gammill HS, Harrington WE, De Rosa SC, Stevenson PA, Forsyth AM, Allen J, Cousin E, van Besien K, Delaney CS, Nelson JL. Maternal microchimerism is prevalent in cord blood in memory T cells and other cell subsets, and persists post-transplant. *Oncoimmunology.* 2017 Mar 31;6(5):e1311436

256. Boddy AM, Fortunato A, Wilson Sayres M, Aktipis A. Fetal microchimerism and maternal health: a review and evolutionary analysis of cooperation and conflict beyond the womb. *Bioessays*. 2015 Oct;37(10):1106-18
257. Frascoli M, Coniglio L, Witt R, Jeanty C, Fleck-Derderian S, Myers DE, Lee TH, Keating S, Busch MP, Norris PJ, Tang Q, Cruz G, Barcellos LF, Gomez-Lopez N, Romero R, MacKenzie TC Alloreactive fetal T cells promote uterine contractility in preterm labor via IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$ . *Sci Transl Med*. 2018 Apr 25;10(438). pii: eaan2263.
258. Chougnnet CA. Human fetal immune cells fight back. *Sci Transl Med*. 2018 Apr 25;10(438). pii: eaat3910
259. Prince, A, Chu, DM, Seferovic, MD, Antony, KM, Ma, J, Aagaard, KM. The Perinatal Microbiome and Pregnancy: Moving Beyond the Vaginal Microbiome *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015 Jun; 5(6): a023051
260. Koucký M, Malíčková K, Hrdý J, Černý A, Hrbáčková H, Šimják P, Pařízek A. The role of maternal immunity and woman's microbiome in the pathogenesis of preterm labor. *Česká Gynekologie* 2017;82(5):407-410.
261. Devaraj S, Hemarajata P, Versalovic J The human gut microbiome and body metabolism: implications for obesity and diabetes. *Clin Chem*. 2013 Apr; 59(4):617-28.
262. Wang T, Cai G, Qiu Y, Fei N, Zhang M, Pang X, Jia W, Cai S, Zhao L Structural segregation of gut microbiota between colorectal cancer patients and healthy volunteers. *ISME J*. 2012 Feb; 6(2):320-9.
263. Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, Liang S, Zhang W, Guan Y, Shen D, Peng Y, Zhang D, Jie Z, Wu W, Qin Y, Xue W, Li J, Han L, Lu D, Wu P, Dai Y, Sun X, Li Z, Tang A, Zhong S, Li X, Chen W, Xu R, Wang M, Feng Q, Gong M, Yu J, Zhang Y, Zhang M, Hansen T, Sanchez G, Raes J, Falony G, Okuda S, Almeida M, LeChatelier E, Renault P, Pons N, Batto JM, Zhang Z, Chen H, Yang R, Zheng W, Li S, Yang H, Wang J, Ehrlich SD, Nielsen R, Pedersen O, Kristiansen K, Wang J A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*. 2012 Oct 4; 490(7418):55-60.
264. Prince AL, Ma J, Kannan PS, Alvarez M, Gisslen T, Harris RA, Sweeney EL, Knox CL, Lambers DS, Jobe AH, Chougnnet CA, Kallapur SG, Aagaard KM. The placental membrane microbiome is altered among subjects with spontaneous preterm birth with and without chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynecol*. 2016 May;214(5):627.e1-627.e16.
265. Eisenhofer R, Minich JJ, Marotz C, Cooper A, Knight R, Weyrich LS. Contamination in Low Microbial Biomass Microbiome Studies: Issues and Recommendations. *Trends Microbiol*. 2019 Feb;27(2):105-117
266. Bardos J, Fiorentino D, Longman RE, Paidas M. Immunological Role of the Maternal Uterine Microbiome in Pregnancy: Pregnancies Pathologies and Altered Microbiota.

Front Immunol. 2020 Jan 8;10:2823.

267. Zhu L, Luo F, Hu W, Han Y, Wang Y, Zheng H, Guo X, Qin J. Bacterial Communities in the Womb During Healthy Pregnancy. *Front Microbiol.* 2018 Sep 6;9:2163.
268. Baker JM, Chase DM, Herbst-Kralovetz MM Uterine Microbiota: Residents, Tourists, or Invaders? *Front Immunol.* 2018 Mar 2;9:208
269. Theis KR, Romero R, Winters AD, Greenberg JM, Gomez-Lopez N, Alhousseini A, Bieda J, Maymon E, Pacora P, Fettweis JM, Buck GA, Jefferson KK, Strauss JF 3rd, Erez O, Hassan SS. Does the human placenta delivered at term have a microbiota? Results of cultivation, quantitative real-time PCR, 16S rRNA gene sequencing, and metagenomics. *Am J Obstet Gynecol.* 2019 Mar;220(3):267.e1-267.e39.
270. Leiby JS, McCormick K, Sherrill-Mix S, Clarke EL, Kessler LR, Taylor LJ, Hofstaedter CE, Roche AM, Mattei LM, Bittinger K, Elovitz MA, Leite R, Parry S, Bushman FD. Lack of detection of a human placenta microbiome in samples from preterm and term deliveries. *Microbiome.* 2018 Oct 30;6(1):196.
271. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SSK, McCulle SL, Karlebach S, Gorle R, Russell J, Tacket CO, Brotman RM, Davis CC, Ault K, Peralta L, Forney LJ. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2011;108(Suppl. 1):4680–4687
272. Witkin SS. The vaginal microbiome, vaginal anti-microbial defence mechanisms and the clinical challenge of reducing infection-related preterm birth BJOG. 2015 Jan;122(2):213-8.
273. Vinturache AE, Gyamfi-Bannerman C, Hwang J, Mysorekar IU, Jacobsson B; Preterm Birth International Collaborative (PREBIC). Maternal microbiome - A pathway to preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2016 Apr;21(2):94-9
274. Mendling W Vaginal Microbiota. *Adv Exp Med Biol.* 2016; 902():83-93
275. Brown RG, Al-Memar M, Marchesi JR, Lee YS, Smith A, Chan D, Lewis H, Kindinger L, Terzidou V, Bourne T, Bennett PR, MacIntyre DA. Establishment of vaginal microbiota composition in early pregnancy and its association with subsequent preterm prelabor rupture of the fetal membranes. *Transl Res.* 2018 Dec 27. pii: S1931-5244(18)30238-X.
276. Tabatabaei N, Eren AM, Barreiro LB, Yotova V, Dumaine A, Allard C, Fraser WD. Vaginal microbiome in early pregnancy and subsequent risk of spontaneous preterm birth: a case-control study. *BJOG.* 2019 Feb;126(3):349-358.
277. Hyman RW, Fukushima M, Jiang H, Fung E, Rand L, Johnson B, Vo KC, Caughey AB, Hilton JF, Davis RW, Giudice LC. Diversity of the vaginal microbiome correlates with preterm birth. *Reprod Sci.* 2014 Jan;21(1):32-40.



278. Kindinger, L.M., Bennett, P.R., Lee, Y.S., Marchesi ,J.R., Smith, A., Cacciatore, S, Holmes, E., Nicholson, J.K., Teoh, T.G., MacIntyre, D.A. The interaction between vaginal microbiota, cervical length, and vaginal progesterone treatment for preterm birth risk. *Microbiome*, 2017, 5, 1, s.6.
279. Elovitz MA, Gajer P, Riis V, Brown AG, Humphrys MS, Holm JB, Ravel J. Cervicovaginal microbiota and local immune response modulate the risk of spontaneous preterm delivery. *Nat Commun*. 2019 Mar 21;10(1):1305
280. Power ML, Quaglieri C, Schulkin J. Reproductive Microbiomes: A New Thread in the Microbial Network. *Reprod Sci*. 2017 Nov;24(11):1482-1492
281. Chu DM, Seferovic M, Pace RM, Aagaard KM. The microbiome in preterm birth. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018 Oct;52:103-113.
282. Cobb CM, Kelly PJ, Williams KB, Babbar S, Angolkar M, Derman RJ. The oral microbiome and adverse pregnancy outcomes. *Int J Womens Health*. 2017 Aug 8;9:551-559
283. Connor K. L., Chehoud C., Chan L., DiStefano P., DeSantis T., Lye S. J. Reproductive Sciences. Vol. 21. Thousand Oaks, Calif, USA: 2014. Maternal diet shapes the gut microbiome, impacting immune status in pregnancy
284. Atarashi K, Tanoue T, Shima T, Imaoka A, Kuwahara T, Momose Y, Cheng G, Yamasaki S, Saito T, Ohba Y, Taniguchi T, Takeda K, Hori S, Ivanov II, Umesaki Y, Itoh K, Honda K Induction of colonic regulatory T cells by indigenous Clostridium species. *Science*. 2011 Jan 21; 331(6015):337-41.
285. Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, Suda W, Nagano Y, Nishikawa H, Fukuda S, Saito T, Narushima S, Hase K, Kim S, Fritz JV, Wilmes P, Ueha S, Matsushima K, Ohno H, Olle B, Sakaguchi S, Taniguchi T, Morita H, Hattori M, Honda K Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature*. 2013 Aug 8; 500(7461):232-6
286. Lee N, Kim WU. Microbiota in T-cell homeostasis and inflammatory diseases. *Exp Mol Med*. 2017 May 26;49(5):e340
287. Iams JD, Goldenberg RL, Meis PJ, Mercer BM, Moawad A, Das A, Thom E, McNellis D, Copper RL, Johnson F, Roberts JM 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 Feb 29;334(9):567-72
288. Yellon SM. Contributions to the dynamics of cervix remodeling prior to term and preterm birth. *Biol Reprod*. 2017 Jan 1;96(1):13-23.
289. Salafia CM, López-Zeno JA, Sherer DM, Whittington SS, Minior VK, Vintzileos AM. Histologic evidence of old intrauterine bleeding is more frequent in prematurity. *Am J Obstet Gynecol*. 1995 Oct;173(4):1065-70.

290. Darj E, Lyrenäs S. Insulin-like growth factor binding protein-1, a quick way to detect amniotic fluid. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1998 Mar;77(3):295-7.
291. Doret M, Cartier R, Miribel J, Massardier J, Massoud M, Bordes A, Moret S, Gaucherand P. Premature preterm rupture of the membrane diagnosis in early pregnancy: PAMG-1 and IGFBP-1 detection in amniotic fluid with biochemical tests. *Clin Biochem.* 2013 Dec;46(18):1816-9
292. Alexander S, Boulvain M, Ceysens G, Haelterman E, Zhang WH. Repeat digital cervical assessment in pregnancy for identifying women at risk of preterm labour. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010 Jun 16;(6):CD005940
293. Iams JD, Paraskos J, Landon MB, Teteris JN, Johnson FF. Cervical sonography in preterm labor. *Obstet Gynecol.* 1994 Jul;84(1):40-6.
294. Saade GR, Thom EA, Grobman WA, Iams JD, Mercer BM, Reddy UM, Tita ATN, Rouse DJ, Sorokin Y, Wapner RJ, Leveno KJ, Blackwell SC, Esplin MS, Tolosa JE, Thorp JM, Caritis SN, Vandorsten JP, Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units (MFMU) Network Cervical funneling or intra-amniotic debris and preterm birth in nulliparous women with midtrimester cervical length less than 30 mm. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018;52(6):757.
295. Berghella V, Owen J, MacPherson C, Yost N, Swain M, Dildy GA 3rd, Miodovnik M, Langer O, Sibai B, National Institute of Child Health and Human Development (NICHD) Maternal-Fetal Medicine Units Network (MFMU) Natural history of cervical funneling in women at high risk for spontaneous preterm birth. *Obstet Gynecol.* 2007;109(4):863.
296. Son M, Grobman WA, Ayala NK, Miller ES A universal mid-trimester transvaginal cervical length screening program and its associated reduced preterm birth rate. *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Mar;214(3):365.e1-5
297. Hughes K, Kane SC, Araujo Júnior E, Da Silva Costa F, Sheehan PM. Cervical length as a predictor for spontaneous preterm birth in high-risk singleton pregnancy: current knowledge. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016 Jul;48(1):7-15.
298. Jain S, Kilgore M, Edwards RK, Owen J Revisiting the cost-effectiveness of universal cervical length screening: importance of progesterone efficacy. *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Jul;215(1):101.e1-7
299. Berghella V, Odibo AO, To MS, Rust OA, Althuisius SM Cerclage for short cervix on ultrasonography: meta-analysis of trials using individual patient-level data. *Obstet Gynecol.* 2005;106(1):181.
300. Mogami H, Kishore AH, Shi H, Keller PW, Akgul Y, Word RA. Fetal fibronectin signaling induces matrix metalloproteases and cyclooxygenase-2 (COX-2) in amnion cells and preterm birth in mice. *J Biol Chem.* 2013 Jan 18;288(3):1953-66

301. Dos Santos F, Daru J, Rogozińska E, Cooper NAM. Accuracy of fetal fibronectin for assessing preterm birth risk in asymptomatic pregnant women: a systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2018 Jun;97(6):657-667
302. Berghella V, Saccone G. Fetal fibronectin testing for reducing the risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019 Jul 29;7:CD006843
303. Bruijn MM, Kamphuis EI, Hoesli IM, et al. The predictive value of quantitative fibronectin testing in combination with cervical length measurement in symptomatic women. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;215(6):793.e1–793.e8
304. Tran TL, Jwala S, Terenna C, McGregor A, Das A, Baxter JK, Berghella V. Evaluation of additive effect of quantitative fetal fibronectin to cervical length for prediction of spontaneous preterm birth among asymptomatic high-risk women. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2020 Aug;33(15):2628-2634.
305. Zhou MX, Zhou J, Bao Y, Chen YQ, Cai C. Evaluation of the ability of cervical length and fetal fibronectin measurement to predict preterm delivery in asymptomatic women with risk factors *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2015 Jan;28(2):153-7..
306. Ehsanipoor RM, Swank ML, Jwa SC, Wing DA, Tarabulsi G, Blakemore KJ Placental  $\alpha$ -Microglobulin-1 in Vaginal Secretions of Women with Evidence of Preterm Labor. *Am J Perinatol*. 2016 Jan;33(2):208-13.
307. Wing DA, Haeri S, Silber AC, Roth CK, Weiner CP, Echebiri NC, Franco A, Pappas LM, Yeast JD, Brebner AA, Quirk JG, Murphy AM, Laurent LC, Field NT, Norton ME Placental Alpha Microglobulin-1 Compared With Fetal Fibronectin to Predict Preterm Delivery in Symptomatic Women. *Obstet Gynecol*. 2017;130(6):1183
308. Kim CJ, Romero R, Chaemsaitong P, Chaiyasit N, Yoon BH, Kim YM Acute chorioamnionitis and funisitis: definition, pathologic features, and clinical significance. *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Oct;213(4 Suppl):S29-52.
309. Musilova I, Kutová R, Pliskova L, Stepan M, Menon R, Jacobsson B, Kacerovsky M. Intraamniotic Inflammation in Women with Preterm Prelabor Rupture of Membranes. *PLoS One*. 2015 Jul 24;10(7):e0133929
310. Hassan S, Romero R, Hendler I, Gomez R, Khalek N, Espinoza J, Nien JK, Berry SM, Bujold E, Camacho N, Sorokin Y. A sonographic short cervix as the only clinical manifestation of intra-amniotic infection. *J Perinat Med*. 2006;34(1):13-9.
311. Theis KR, Romero R, Motomura K, Galaz J, Winters AD, Pacora P, Miller D, Slutsky R, Florova V, Levenson D, Para R, Varrey A, Kacerovsky M, Hsu CD, Gomez-Lopez N. Microbial burden and inflammasome activation in amniotic fluid of patients with preterm prelabor rupture of membranes. *J Perinat Med*. 2020 Feb 25;48(2):115-131.
312. Romero R, Miranda J, Chaiworapongsa T, Korzeniewski SJ, Chaemsaitong P, Gotsch F, Dong Z, Ahmed AI, Yoon BH, Hassan SS, Kim CJ, Yeo L. Prevalence and clinical significance of sterile intra-amniotic inflammation in patients with preterm

- labor and intact membranes. *Am J Reprod Immunol*. 2014 Nov;72(5):458-74.
313. Lee SY, Park KH, Jeong EH, Oh KJ, Ryu A, Kim A. Intra-amniotic infection/inflammation as a risk factor for subsequent ruptured membranes after clinically indicated amniocentesis in preterm labor. *J Korean Med Sci*. 2013 Aug;28(8):1226-32
  314. Gibbs RS, Castillo MS, Rodgers PJ. Management of acute chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynecol*. 1980 Mar 15;136(6):709-13.
  315. Maki Y, Furukawa S, Nakayama T, Oohashi M, Shiiba N, Furuta K, Tokunaga S, Sameshima H . Clinical chorioamnionitis criteria are not sufficient for predicting intra-amniotic infection. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2020 Jan 8:1-6.
  316. Park H, Park KH Kim YM1, Kook SY, Jeon SJ, Yoo HN. Plasma inflammatory and immune proteins as predictors of intra-amniotic infection and spontaneous preterm delivery in women with preterm labor: a retrospective study. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2018 May 9;18(1):146.
  317. Yoneda N, Yoneda S, Niimi H, Ito M, Fukuta K, Ueno T, Ito M, Shiozaki A, Kigawa M, Kitajima I, Saito S. . Sludge reflects intra-amniotic inflammation with or without microorganisms. *Am J Reprod Immunol*. 2018 Feb;79(2).
  318. Kunze M, Klar M, Morfeld CA, Thorns B, Schild RL, Markfeld-Erol F, Rasenack R, Proempeler H, Hentschel R, Schaefer WR. Cytokines in noninvasively obtained amniotic fluid as predictors of fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 2016 Jul;215(1):96.e1-8.
  319. Chaemsaitong P, Romero R, Docheva N, Chaiyasit N, Bhatti G, Pacora P, Hassan SS, Yeo L, Erez O. Comparison of rapid MMP-8 and interleukin-6 point-of-care tests to identify intra-amniotic inflammation/infection and impending preterm delivery in patients with preterm labor and intact membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2018 Jan;31(2):228-244.
  320. Gomez-Lopez N, Romero R, Panaitescu B, Leng Y, Xu Y, Tarca AL Faro J, Pacora P, Hassan SS, Hsu CD. Inflammasome activation during spontaneous preterm labor with intra-amniotic infection or sterile intra-amniotic inflammation. *Am J Reprod Immunol*. 2018 Nov;80(5):e13049.
  321. Rodríguez-Trujillo A, Cobo T, Vives I, Bosch J, Kacerovsky M, Posadas DE, Ángeles MA, Gratacós E Jacobsson B, Palacio M. Gestational age is more important for short-term neonatal outcome than microbial invasion of the amniotic cavity or intra-amniotic inflammation in preterm prelabor rupture of membranes. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2016 Aug;95(8):926-33
  322. RCOG Green-top Guideline No. 1b, February 2011, Tocolysis for women in preterm labour. [www.rcog.org.uk/files/rcog-corp/GTG1b26072011.pdf](http://www.rcog.org.uk/files/rcog-corp/GTG1b26072011.pdf)

323. American College of Obstetricians and Gynecologists. Management of preterm labour. Practice Bulletin 127.. *Obstet Gynecol* 2012; 119: 1308–17
324. Haas DM, Imperiale TF, Kirkpatrick PR, Klein RW, Zollinger TW, Golichowski AM. Tocolytic therapy: a meta-analysis and decision analysis. *Obstet Gynecol.* 2009;113(3):585
325. How HY, Khoury JC, Sibai BM. Cervical dilatation on presentation for preterm labor and subsequent preterm birth. *Am J Perinatol.* 2009 Jan;26(1):1-6
326. Flenady V, Reinebrant HE, Liley HG, Tambimuttu EG, Papatsonis DNM. Oxytocin receptor antagonists for inhibiting preterm labour. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2014, Issue 6. Art. No.: CD004452
327. Neilson JP, West HM, Dowswell T. Betamimetics for inhibiting preterm labour. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014 Feb 5;(2):CD004352.
328. Conde-Agudelo A, Romero R, Kusanovic JP: Nifedipine in the management of preterm labor: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol* 2011; 204: 134.e1–20.
329. Romero CL, Dos Santos RA, Kumar S, Souza JP, Flenady V. Cyclo-oxygenase (COX) inhibitors for treating preterm labour. Reinebrant HE, Pileggi-Castro C. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015 Jun 5;(6):CD001992
330. Liggins GC. Premature delivery of foetal lambs infused with corticosteroids. *Journal of Endocrinology.* 1969;45:515–23.
331. Chawla S, Natarajan G, Shankaran S, Pappas A, Stoll BJ, Carlo WA, Saha S, Das A, Laptook AR, Higgins RD; National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network Association of Neurodevelopmental Outcomes and Neonatal Morbidities of Extremely Premature Infants With Differential Exposure to Antenatal Steroids. *JAMA Pediatr.* 2016 Oct 10
332. RCOG Green-top Guideline No. 7, October 2010, Antenatal Corticosteroids to Reduce Neonatal Morbidity and Mortality, [www.rcog.org.uk/globalassets/documents/guidelines/gtg\\_7.pdf](http://www.rcog.org.uk/globalassets/documents/guidelines/gtg_7.pdf)
333. Crane J, Armson A, Brunner M, De La Ronde S, Farine D, Keenan-Lindsay L, Leduc L, Schneider C, Van Aerde J; Executive Committee of the Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. Antenatal corticosteroid therapy for fetal maturation. *J Obstet Gynaecol Can.* 2003 Jan;25(1):45-52
334. Crowther CA, McKinlay CJ, Middleton P, Harding JE. Repeat doses of prenatal corticosteroids for women at risk of preterm birth for improving neonatal health outcomes. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2015, Issue 7. Art. No.: CD003935.

335. Kalra S, Kalra B, Gupta Y Glycemic management after antenatal corticosteroid therapy. *N Am J Med Sci*. 2014 Feb;6(2):71-6.
336. Doyle LW, Crowther CA, Middleton P, Marret S, Rouse D. Magnesium sulphate for women at risk of preterm birth for neuroprotection of the fetus. *Cochrane Database Syst Rev* 2009;(1):CD004661.
337. Magee L, Sawchuck D, Synnes A, von Dadelszen P., Basso M, Crane JM et al. SOGC Clinical Practice Guideline. Magnesium sulphate for fetal neuroprotection. *J Obstet. Gynaecol Can* 2011; 33(5):516-29.
338. Crowther CA, Hiller JE, Doyle LW, Haslam RR. Effect of magnesium sulfate given for neuroprotection before preterm birth: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003; 290(20):2669–76.
339. Marret S, Marpeau L, Zupan-Simunek V, Eurin D, Leveque C, Hellot MF, et al. Magnesium sulphate given before very-preterm birth to protect infant brain: the randomised controlled PREMAG trial\*. *BJOG* 2007;114:310–8.
340. Mittendorf R, Dambrosia J, Pryde PG, Lee KS, Gianopoulos JG, Besinger RE, et al. Association between the use of antenatal magnesium sulfate in preterm labor and adverse health outcomes in infants. *Am J Obstet Gynecol* 2002;186:1111–8
341. Rouse DJ, Hirtz DG, Thom E, Varner MW, Spong CY, Mercer BM, et al. A randomized, controlled trial of magnesium sulfate for the prevention of cerebral palsy. *N Engl J Med* 2008; 359(9):895–905.
342. The Magpie Trial: a randomised trial comparing magnesium sulphate with placebo for preeclampsia. Outcome for children at 18 months. *BJOG* 2007;114:289–99.
343. Brookfield KF, Vinson A. Magnesium sulfate use for fetal neuroprotection. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2019 Apr;31(2):110-115
344. Jayaram PM, Mohan MK, Farid I, Lindow S. Antenatal magnesium sulfate for fetal neuroprotection: a critical appraisal and systematic review of clinical practice guidelines. *J Perinat Med*. 2019 Apr 24;47(3):262-269
345. Yokoyama K, Takahashi N, Yada Y, Koike Y, Kawamata R, Uehara R, Kono Y, Honma Y, Momoi MY. Prolonged maternal magnesium administration and bone metabolism in neonates. *Early Hum Dev*. 2010 Mar;86(3):187-91.
346. McClure EM, Goldenberg RL Use of antibiotics to reduce preterm birth. *Lancet Glob Health*. 2019 Jan;7(1):e18-e19
347. Měchurová A, Melichar J, Straňák Z, Švihovec P, Mašata J. Perinatální infekce a podávání antibiotik podle nových poznatků . *Česká Gynekologie, Supplementum*, ročník 78, březen 2013, s.104

348. Měchurová A, Vlk R, Unzeitig V. Diagnostika a léčba streptokoků skupiny B v těhotenství a za porodu . *Česká Gynekologie*, Supplementum, ročník 78, březen 2013, 104 s.
349. Verani J. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease, Revised Guidelines from CDC, 2010
350. Kenyon,S., Boulvain,M., Neilson,J. Antibiotics for preterm rupture of the membranes: a systematic review. *Obstet.Gynecol.* 2004, 104 (5Pt1): 1051 – 1057
351. Lyell DJ, Pullen K, Fuh K, et al. Daily compared with 8-hour gentamicin for the treatment of intrapartum chorioamnionitis: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol* 2010; 115:344
352. Chapman E, Reveiz L, Illanes E, Bonfill Cosp X. Antibiotic regimens for management of intra-amniotic infection. *Cochrane Database Syst Rev* 2014; 12:CD010976.
353. Bond DM, et al. Planned early birth versus expectant management for women with preterm prelabour rupture of membranes prior to 37 weeks' gestation for improving pregnancy outcome. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017.
354. Archabald KL, Buhimschi IA, Bahtiyar MO, Dulay AT, Abdel-Razeq SS, Pettker CM, Lipkind HS, Hardy JT, McCarthy ME, Zhao G, Bhandari V, Buhimschi CS. Limiting the Exposure of Select Fetuses to Intrauterine Infection/Inflammation Improves Short-Term Neonatal Outcomes in Preterm Premature Rupture of Membranes. *Fetal Diagn Ther.* 2017;42(2):99-110
355. Baser E, Aydogan Kirmizi D, Ulubas Isik D, Ozdemirci S, Onat T, Serdar Yalvac E, Demirel N, Moraloglu Tekin O. The effects of latency period in PPRM cases managed expectantly. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2020 Jul;33(13):2274-2283.
356. Pasquier JC, Bujold E, Rabilloud M, Picaud JC, Ecochard R, Claris O, Moret S, Mellier G. Effect of latency period after premature rupture of membranes on 2 years infant mortality (DOMINOS study). *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2007 Nov;135(1):21-7
357. ACOG Practice Bulletin Prelabor Rupture of Membranes, Number 217. *Obstet Gynecol* 2020 Mar;135(3):e80-e97
358. Kacerovský M (editor), Kokrdová Z, Koucký M, Křepelka P, Lamberská T, Mašata J, Měchurová A, Pařízek A, Smíšek J, Šimják P, Velebil P. Předčasný odtok plodové vody před termínem porodu Doporučený postup. *Česká Gynekologie* 2017, 82, č. 2
359. Musilova I, Kacerovsky M, Stepan M, Bestvina T, Pliskova L, Zednikova B, Jacobsson B. Maternal serum C-reactive protein concentration and intra-amniotic inflammation in women with preterm prelabor rupture of membranes. *PLoS One.* 2017 Aug 16;12(8):e0182731.
360. Linehan LA, Walsh J, Morris A, Kenny L, O'Donoghue K, Dempsey E, Russell N Neonatal and maternal outcomes following midtrimester preterm premature rupture of

- the membranes: a retrospective cohort study. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2016 Jan;16:25.
361. Beydoun SN, Yasin SY Premature rupture of the membranes before 28 weeks: conservative management. *Am J Obstet Gynecol*. 1986;155(3):471.
  362. Hadi HA, Hodson CA, Strickland D Premature rupture of the membranes between 20 and 25 weeks' gestation: role of amniotic fluid volume in perinatal outcome. *Am J Obstet Gynecol*. 1994;170(4):1139
  363. Dotters-Katz SK, Panzer A, Grace MR, Smid MC, Keku JA, Vladutiu CJ, Boggess KA, Manuck TA Maternal Morbidity After Previabie Prelabor Rupture of Membranes. *Obstet Gynecol*. 2017 Jan;129(1):101-106
  364. Holmgren PA, Olofsson JI Preterm premature rupture of membranes and the associated risk for placental abruption. Inverse correlation to gestational length. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1997;76(8):743.
  365. Kiver V, Boos V, Thomas A, Henrich W, Weichert A Perinatal outcomes after previable preterm premature rupture of membranes before 24 weeks of gestation. *J Perinat Med*. 2018;46(5):555
  366. Koucký M, Vráblíková H, Černý A, Calda P. Současný management abnormálně invazivní placenty – placenta accreta/increta/percreta. *Actual Gyn*. 2016;8:42-47
  367. Shumway JB, Al-Malt A, Amon E, Cohlan B, Amini S, Abboud M, Winn HN Impact of oligohydramnios on maternal and perinatal outcomes of spontaneous premature rupture of the membranes at 18-28 weeks. *J Matern Fetal Med*. 1999;8(1):20.
  368. Blott M, Greenough A Neonatal outcome after prolonged rupture of the membranes starting in the second trimester. *Arch Dis Child*. 1988;63(10 Spec No):1146
  369. Wilkinson DJ. Gestational ageism. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2012 Jun 1;166(6):567-72
  370. Lui K, Bajuk B, Foster K, Gaston A, Kent A, Sinn J, Spence K, Fischer W, Henderson-Smart D. Perinatal care at the borderlines of viability: a consensus statement based on a NSW and ACT consensus workshop. *Med J Aust*. 2006 Nov 6;185(9):495-500.
  371. Keogh J, Sinn J, Hollebhone K, Bajuk B, Fischer W, Lui K; Consensus Workshop Organising Committee. Delivery in the 'grey zone': collaborative approach to extremely preterm birth. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2007 Aug;47(4):273-8.
  372. Alfievic Z, Milan SJ, Livio S. Caesarean section versus vaginal delivery for preterm birth in singletons. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 Sep 12;(9):CD000078
  373. Ray Chaudhuri Bhatta S, Keriakos R. Review of the recent literature on the mode of delivery for singleton vertex preterm babies. *J Pregnancy*. 2011;2011:186560



374. Kayem G, Baumann R, Goffinet F, El Abiad S, Ville Y, Cabrol D, Haddad B. Early preterm breech delivery: is a policy of planned vaginal delivery associated with increased risk of neonatal death? *Am J Obstet Gynecol.* 2008 Mar;198(3):289.e1-6.
375. EXPRESS Group, Fellman V, Hellström-Westas L, Norman M, Westgren M, Källén K, Lagercrantz H, Marsál K, Serenius F, Wennergren M. One-year survival of extremely preterm infants after active perinatal care in Sweden. *JAMA* 2009;301(21):2225-33
376. Serenius F, Ewald U, Farooqi A, Fellman V, Hafström M, Hellgren K, Maršál K, Ohlin A, Olhager E, Stjernqvist K, Strömberg B, Ådén U, Källén K; Extremely Preterm Infants in Sweden Study Group. Neurodevelopmental Outcomes Among Extremely Preterm Infants 6.5 Years After Active Perinatal Care in Sweden. *JAMA Pediatr.* 2016 Oct 1;170(10):954-963.
377. Källén K, Serenius F, Westgren M, Maršál K; EXPRESS Group. Impact of obstetric factors on outcome of extremely preterm births in Sweden: prospective population-based observational study (EXPRESS). *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2015 Nov;94(11):1203-14
378. EXPRESS Group. Incidence of and risk factors for neonatal morbidity after active perinatal care: Extremely Preterm Infants Study in Sweden (EXPRESS). *Acta Paediatr* 2010;99(7):978-92.
379. Serenius F, Blennow M, Maršál K, Sjörs G, Källén K, The EXPRESS study Group. Intensity of perinatal care for extremely preterm infants: Outcomes at 2.5 years. *Pediatrics* 2015;135:e1163-e1172
380. EXPRESS Group. Neurodevelopmental outcome in extremely preterm infants at 2.5 years after active perinatal care in Sweden: *JAMA*; 2013 May 1;309(17):1810-20
381. Šimják P, Smíšek J, Koucký M, Lamberská T, Plavka R, Hájek Z. Proactive approach at the limits of viability improves the short-term outcome of neonates born after 23 weeks' gestation. *J Perinat Med.* 2018 Jan 26;46(1):103-111.
382. Sengpiel V, Bacelis J, Myhre R, Myking S, Devold Pay AS, Haugen M, Brantsæter AL, Meltzer HM, Nilsen RM, Magnus P, Vollset SE, Nilsson S, Jacobsson B Folic acid supplementation, dietary folate intake during pregnancy and risk for spontaneous preterm delivery: a prospective observational cohort study. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2014 Nov 2;14:375.
383. Wang Y, Cao Z, Peng Z, Xin X, Zhang Y, Yang Y, He Y, Xu J, Ma X. Folic acid supplementation, preconception body mass index, and preterm delivery: findings from the preconception cohort data in a Chinese rural population. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2015 Dec 15;15:336
384. Haider BA, Bhutta ZA. Multiple-micronutrient supplementation for women during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017 Apr 13;4(4):CD004905

385. Wei SQ. Vitamin D and pregnancy outcomes. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2014 Dec;26(6):438-47.
386. von Websky K, Hasan AA, Reichetzeder C, Tsuprykov O, Hocher B. Impact of vitamin D on pregnancy-related disorders and on offspring outcome. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2018 Jun;180:51-64.
387. De-Regil LM, Palacios C, Lombardo LK, Peña-Rosas JP. Vitamin D supplementation for women during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016 Jan 14;(1):CD008873.
388. Olapeju B, Saifuddin A, Wang G, Ji Y, Hong X, Raghavan R, Summers A, Keiser A, Ji H, Zuckerman B, Yarrington C, Hao L, Surkan PJ, Cheng TL, Wang X. Maternal postpartum plasma folate status and preterm birth in a high-risk US population. *Public Health Nutr*. 2019 May;22(7):1281-1291.
389. Yu L, Guo Y, Ke HJ, He YS, Che D, Wu JL. Vitamin D Status in Pregnant Women in Southern China and Risk of Preterm Birth: A Large-Scale Retrospective Cohort Study. *Med Sci Monit*. 2019 Oct 16;25:7755-7762
390. Yang L, Pan S, Zhou Y, Wang X, Qin A, Huang Y, Sun S. The Correlation Between Serum Vitamin D Deficiency and Preterm Birth. *Med Sci Monit*. 2016 Nov 16;22:4401-4405.
391. Baczyńska-Strzecha M, Kalinka J. Assessment of correlation between vitamin D level and prevalence of preterm births in the population of pregnant women in Poland. *Int J Occup Med Environ Health*. 2017 Oct 6;30(6):933-941.
392. Carlberg C. Nutrigenomics of Vitamin D. *Nutrients*. 2019 Mar 21;11(3):676
393. Sassi F, Tamone C, D'Amelio P Vitamin D: Nutrient, Hormone, and Immunomodulator. *Nutrients*. 2018 Nov 3;10(11):1656
394. Yamaguchi T, Hirota K, Nagahama K, Ohkawa K, Takahashi T, Nomura T, Sakaguchi S. Control of immune responses by antigen-specific regulatory T cells expressing the folate receptor. *Immunity*. 2007 Jul;27(1):145-59
395. Manrique-Corredor EJ, Orozco-Beltran D, Lopez-Pineda A, Quesada JA, Gil-Guillen VF, Carratala-Munuera C. Maternal periodontitis and preterm birth: Systematic review and meta-analysis. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2019 Jun;47(3):243-251.
396. Vergnes J-N, Sixou M: Preterm low birthweight and maternal periodontal status : a meta – analysis. *Obstet Gynecol*. 2007, 196, s135.e1-135.e7.
397. Smaill FM, Vazquez JC. Antibiotics for asymptomatic bacteriuria in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019 Nov 25;2019(11):CD000490.

398. Berghella V, Saccone G. Cervical assessment by ultrasound for preventing preterm delivery. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019 Sep 25;9(9):CD007235
399. Jain S, Kilgore M, Edwards RK, Owen J Revisiting the cost-effectiveness of universal cervical length screening: importance of progesterone efficacy. *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Jul;215(1):101.e1-7
400. Khalil A, Rodgers M, Baschat A, Bhide A, Gratacos E, Hecher K, Kilby MD, Lewi L, Nicolaides KH, Oepkes D, Raine-Fenning N, Reed K, Salomon LJ, Sotiriadis A, Thilaganathan B, Ville Y. ISUOG Practice Guidelines: role of ultrasound in twin pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016 Feb;47(2):247-63.
401. Romero R, Nicolaides KH, Conde-Agudelo A, O'Brien JM, Cetingoz E, Da Fonseca E, Creasy GW, Hassan SS. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016 Sep;48(3):308-17. Epub 2016 Jul 19. Vaginal progesterone decreases preterm birth  $\leq 34$  weeks of gestation in women with a singleton pregnancy and a short cervix: an updated meta-analysis including data from the OPPTIMUM study.
402. Romero R, Conde-Agudelo A, El-Refaie W, Rode L, Brizot ML, Cetingoz E, Serra V, Da Fonseca E, Abdelhafez MS, Tabor A, Perales A, Hassan SS, Nicolaides KH. Vaginal progesterone decreases preterm birth and neonatal morbidity and mortality in women with a twin gestation and a short cervix: an updated meta-analysis of individual patient data. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017 Mar;49(3):303-314
403. Norwitz ER, Lye SJ. Biology of parturition. In: Creasy RK, Resnick R, Iams JD, et al, eds. *Creasy & Resnick's Maternal-Fetal Medicine*, 6th ed. Philadelphia: Elsevier; 2009:69-85.
404. Challis JRG, Matthews SG, Gibb W, Lye SJ Endocrine and paracrine regulation of birth at term and preterm. *Endocr Rev.* 2000;21(5):514.
405. Szekeres-Bartho J, Barakonyi A, Par G, Polgar B, Palkovics T, Szereday L. Progesterone as an immunomodulatory molecule. *Int Immunopharmacol.* 2001 Jun;1(6):1037-48
406. Dodd JM, Jones L, Flenady V, Cincotta R, Crowther CA. Prenatal administration of progesterone for preventing preterm birth in women considered to be at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013 Jul 31;(7):CD004947
407. Carmichael SL, Shaw GM, Laurent C, Croughan MS, Olney RS, Lammer EJ Maternal progestin intake and risk of hypospadias. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2005;159(10):957.
408. Society for Maternal-Fetal Medicine Publications Committee, with assistance of Vincenzo Berghella. Progesterone and preterm birth prevention: translating clinical trials data into clinical practice. *Am J Obstet Gynecol.* 2012 May;206(5):376-86.

409. Briery CM, Veillon EW, Klauser CK, et al. Women with preterm premature rupture of the membranes do not benefit from weekly progesterone. *Am J Obstet Gynecol* 2011; 204:54.e1.
410. Su LL, Samuel M, Chong YS. Progestational agents for treating threatened or established preterm labour. *Cochrane Database Syst Rev* 2014; :CD006770.
411. Suhag A, Saccone G, Berghella V. Vaginal progesterone for maintenance tocolysis: a systematic review and metaanalysis of randomized trials. *Am J Obstet Gynecol* 2015; 213:479.
412. Alfirevic Z, Stampalija T, Roberts D, Jorgensen AL. Cervical stitch (cerclage) for preventing preterm birth in singleton pregnancy. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2012, Issue 4. Art. No.: CD008991.
413. Green-top Guideline Cervical cerclage No.60 RCOG 2011.
414. SOGC Clinical Practice Guidelines: Cervical Insufficiency and Cervical Cerclage, *J Obstet Gynaecol Can* 2013;35(12):1115–1127
415. Diago Almela VJ, Martinez-Varea A, Perales-Puchalt A, Alonso-Diaz R, Perales A. Good prognosis of cerclage in cases of cervical insufficiency when intra-amniotic inflammation/infection is ruled out. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015 Sep;28(13):1563-8
416. Suhag A, Berghella V. *Cervical cerclage.* Clin Obstet Gynecol. 2014 Sep;57(3):557-67.
417. Berghella V, Rafael TJ, Szychowski JM, Rust OA, Owen J. Cerclage for short cervix on ultrasonography in women with singleton gestations and previous preterm birth: a meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 2011 Mar;117(3):663-71.
418. Conde-Agudelo A, Romero R, Da Fonseca E, O'Brien JM, Cetingoz E, Creasy GW, Hassan SS, Erez O, Pacora P, Nicolaidis KH. Vaginal Progesterone Is as Effective as Cervical Cerclage to Prevent Preterm Birth in Women With a Singleton Gestation, Previous Spontaneous Preterm Birth, and a Short Cervix: Updated Indirect Comparison Meta-Analysis. *Am J Obstet Gynecol* 2018 Jul;219(1):10-25.
419. Huang X, Saravelos SH, Li TCH, Huang R, Xu R, Zhou Q, Ma N, Xia E. Cervical Cerclage in Twin Pregnancy . *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.*2019 Aug;59:89-97.
420. Shennan A, Chandiramani M, Bennett P, David AL, Girling J, Ridout A, Seed PT, Simpson N, Thornton S, Tydeman G, Quenby S, Carter J. MAVRIC: a multicenter randomized controlled trial of transabdominal vs transvaginal cervical cerclage. *Am J Obstet Gynecol.* 2020 Mar;222(3):261.e1-261.e9.

421. Dawood F, Farquharson RG. Transabdominal cerclage: preconceptional versus first trimester insertion. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016 Apr;199:27-31
422. Šimják P, Cibula D, Pařízek A, Sláma J. Management of pregnancy after fertility-sparing surgery for cervical cancer. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2020 Jul;99(7):830-838.
423. Vaisbuch E, Hassan SS, Mazaki-Tovi S, Nhan-Chang CL, Kusanovic JP, Chaiworapongsa T, Dong Z, Yeo L, Mittal P, Yoon BH, Romero R. Patients with an asymptomatic short cervix ( $\leq 15$  mm) have a high rate of subclinical intraamniotic inflammation: implications for patient counseling. *Am J Obstet Gynecol.* 2010 May;202(5):433.e1-8.
424. Hassan SS, Romero R, Berry SM, Dang K, Blackwell SC, Treadwell MC, Wolfe HM. Patients with an ultrasonographic cervical length  $\leq 15$  mm have nearly a 50% risk of early spontaneous preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 2000 Jun;182(6):1458-67.
425. 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;12:312-7
426. Piccinni MP. T cell tolerance towards the fetal allograft. *J Reprod Immunol.* 2010 May;85(1):71-5.
427. Rowe JH, Ertelt JM, Aguilera MN, Farrar MA, Way SS. Foxp3(+) regulatory T cell expansion required for sustaining pregnancy compromises host defense against prenatal bacterial pathogens. *Cell Host Microbe.* 2011 Jul 21;10(1):54-64.
428. Gomez-Lopez N, Arenas-Hernandez M, Romero R, Miller D, Garcia-Flores, Leng Y, Xu Y, Galaz J, Hassan SS, Hsu Ch, Tse H, Sanchez-Torres C, Done B, Tarca AD. Regulatory T Cells Play a Role in a Subset of Idiopathic Preterm Labor/Birth and Adverse Neonatal Outcomes. *Cell Rep* 2020 Jul 7;32(1):107874.
429. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S (February 2003). Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science.* 299 (5609): 1057-61.
430. Tsuda S, Zhang X, Hamana H, Shima T, Ushijima A, Tsuda K, Muraguchi A, Kishi H, Saito S. Clonally Expanded Decidual Effector Regulatory T Cells Increase in Late Gestation of Normal Pregnancy, but Not in Preeclampsia, in Humans. *Front Immunol.* 2018 Aug 24;9:1934
431. Thuere C, Zenclussen ML, Schumacher A, et al. Kinetics of regulatory T cells during murine pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2007;58(6):514-523.
432. Kopřivová H, Hájková M, Koucký M, Malíčková K, Holář V, Krulová M. Kinetics of Helios(+) and Helios(-) T regulatory cell subsets in the circulation of healthy pregnant women. *Scand J Immunol.* 2019 Apr;89(4):e12754

433. Areia AL, Vale-Pereira S, Vaz-Ambrósio A, Alves V, Rodrigues-Santos P, Rosa MS, Moura P, Mota-Pinto A. Does progesterone administration in preterm labor influence Treg cells? *J Perinat Med*. 2016 Aug 1;44(6):605-11.
434. Hassan SS, Romero R, Vidyadhari D, Fusey S, Baxter JK, Khandelwal M, Vijayaraghavan J, Trivedi Y, Soma-Pillay P, Sambarey P, Dayal A, Potapov V, O'Brien J, Astakhov V, Yuzko O, Kinzler W, Dattel B, Sehdev H, Mazheika L, Manchulenko D, Gervasi MT, Sullivan L, Conde-Agudelo A, Phillips JA, Creasy GW; PREGNANT Trial. Vaginal progesterone reduces the rate of preterm birth in women with a sonographic short cervix: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2011 Jul;38(1):18-31.
435. Romero R, Conde-Agudelo A, Da Fonseca E, O'Brien JM, Cetingoz E, Creasy GW, Hassan SS, Nicolaides KH. Vaginal progesterone for preventing preterm birth and adverse perinatal outcomes in singleton gestations with a short cervix: a meta-analysis of individual patient data. *Am J Obstet Gynecol*. 2018 Feb;218(2):161-180
436. Shah NM, Lai PF, Imami N, Johnson MR. Progesterone-Related Immune Modulation of Pregnancy and Labor. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 Mar 29;10:198.
437. Lee JH, Ulrich B, Cho J, Park J, Kim CH Progesterone promotes differentiation of human cord blood fetal T cells into T regulatory cells but suppresses their differentiation into Th17 cells. *J Immunol*. 2011 Aug 15;187(4):1778-87
438. Thangamani S, Kim M, Son Y, Huang X, Kim H, Lee JH, Cho J, Ulrich B, Broxmeyer HE, Kim CH. Cutting edge: progesterone directly upregulates vitamin d receptor gene expression for efficient regulation of T cells by calcitriol. *J Immunol*. 2015 Feb 1;194(3):883-6
439. Feng L, Allen TK, Marinello WP, Murtha AP. Roles of Progesterone Receptor Membrane Component 1 in Oxidative Stress-Induced Aging in Chorion Cells. *Reprod Sci*. 2019 Mar;26(3):394-403
440. Raynes Greenow, C.H., Roberts, C.L., Bell, J.C., Peat, B., Gilbert, G.L., Parker, S., 2011. Antibiotics for ureaplasma in the vagina in pregnancy. *Cochrane Database Syst.Rev.*, CD003767.
441. Thinkhamrop, J., Hofmeyr, G.J., Adetoro, O., Lumbiganon, P., Ota, E., 2015. Antibiotic prophylaxis during the second and third trimester to reduce adverse pregnancy outcomes and morbidity. *Cochrane Database Syst. Rev.* 6, CD002250.
442. Flenady V, Hawley G, Stock OM, Kenyon S, Badawi N. Prophylactic antibiotics for inhibiting preterm labour with intact membranes. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013 Dec 5;(12):CD000246
443. Furcron AE, Romero R, Plazyo O, Unkel R, Xu Y, Hassan SS, Chaemsaitong P, Mahajan A, Gomez-Lopez N. Vaginal progesterone, but not 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone caproate, has antiinflammatory effects at the murine maternal-fetal interface. *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Dec;213(6):846.e1-846.e19.

444. Hafner LM, Cunningham K, Beagley KW. Ovarian steroid hormones: effects on immune responses and Chlamydia trachomatis infections of the female genital tract. *Mucosal Immunol.* 2013 Sep;6(5):859-75.
445. Wan C, Latter JL, Amirshahi A, Symonds I, Finnie J, Bowden N, Scott RJ, Cunningham KA, Timms P, Beagley KW. Progesterone activates multiple innate immune pathways in Chlamydia trachomatis-infected endocervical cells. *Am J Reprod Immunol.* 2014 Feb;71(2):165-77
446. Viscardi RM. Ureaplasma species: role in neonatal morbidities and outcomes. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2014 Jan;99(1):F87-92
447. Lannaman K, Romero R, Chaiworapongsa T, Kim YM, Korzeniewski SJ, Maymon E, Gomez-Lopez N, Panaitescu B, Hassan SS, Yeo L, Yoon BH, Jai Kim C, Erez O. Fetal death: an extreme manifestation of maternal anti-fetal rejection. *J Perinat Med.* 2017 Oct 26;45(7):851-868. doi: 10.1515/jpm-2017-0073. PMID
448. Kwak-Kim J, Yang KM, Gilman-Sachs A. Recurrent pregnancy loss: a disease of inflammation and coagulation. *J Obstet Gynaecol Res.* 2009 Aug;35(4):609-22.
449. Dunkelberger JR, Song WC. Complement and its role in innate and adaptive immune responses. *Cell Res.* 2010;20:34-50
450. Murugaiah V, Tsolaki AG, Kishore U Collectins: Innate Immune Pattern Recognition Molecules.. *Adv Exp Med Biol.* 2020;1204:75-127.
451. Nauseef CL, Howard MC, Fanelli G, Farrar CA, Sacks S. Collectin-11 (CL-11) Is a Major Sentinel at Epithelial Surfaces and Key Pattern Recognition Molecule in Complement-Mediated Ischaemic Injury. *Front Immunol.* 2018 Sep 6;9:2023.
452. Eisen DP, Minchinton RM. Impact of mannose-binding lectin on susceptibility to infectious diseases. *Clin Infect Dis.* 2003;37:1496-1505
453. Garred P, Madsen HO, Halberg P, et al. Mannose-binding lectin polymorphisms and susceptibility to infection in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1999;42:2145-2152
454. Koch A, Melbye M, Sorensen P, et al. Acute respiratory tract infections and mannose-binding lectin insufficiency during early childhood. *JAMA.* 2001;285:1316-1321.
455. Roy S, Knox K, Segal S, et al. MBL genotype and risk of invasive pneumococcal disease: a case-control study. *Lancet.* 2002;359:1569-1573
456. van de Geijn FE, Dolhain R, van Rijs W, Willemsen SP, Hazes J, de Groot C. Dolhain RJ, van Rijs W, Willemsen SP, Hazes JM, de Groot CJ. Mannose-binding lectin genotypes are associated with shorter gestational age. An evolutionary advantage of low MBL production genotypes? *Mol Immunol.* 2008;45(5):1514-1518

457. Christiansen OB, Nielsen HS, Lund M, Steffensen R, Varming K. Mannose-binding lectin-2 genotypes and recurrent late pregnancy losses. *Hum Reprod.* 2009;24:291-299.
458. Calkavur S, Erdemir G, Onay H, et al. Mannose-binding lectin may affect pregnancy outcome. *Turk J Pediatr.* 2015;57:26-33
459. Wang LK, Huang MC, Liu CC, Chen CP. Second-trimester plasma mannose-binding lectin levels and risk of preterm birth. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017;30:678-683.
460. Heitzeneder S, Seidel M, Forster-Waldl E, Heitger A. Mannan binding lectin deficiency - Good news, bad news, doesn't matter? *Clin Immunol.* 2012;143(1):22-38.
461. Thiel S, Frederiksen PD, Jensenius JC. Clinical manifestations of mannan-binding lectin deficiency. *Mol Immunol.* 2006;43(1–2):86-96.
462. van de Geijn FE, Roos A, de Man YA, et al. Mannose-binding lectin levels during pregnancy: a longitudinal study. *Hum Reprod.* 2007;22(2):362-371.
463. Toth B, Würfel W, Bohlmann M et al. Recurrent miscarriage: diagnostic and therapeutic procedures. Guideline of the DGGG, OEGGG and SGGG (S2k-Level, AWMF Registry Number 015/050). *Geburtshilfe Frauenheilkd* 2018; 78: 364–381
464. Royal College of Obstetricians & Gynaecologists. The Investigation and Treatment of Couples with Recurrent First-Trimester and Second Trimester Miscarriage. Guideline No. 17, 2011.
465. American Society for Reproductive Medicine. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertil Steril* 2012; 98: 1103–1111
466. Jaslow CR, Carney JL, Kutteh WH. Diagnostic factors identified in 1020 women with two versus three or more recurrent pregnancy losses. *Fertil Steril* 2010; 93: 1234–1243
467. Garred P, Larsen F, Madsen HO, Koch C. Mannose-binding lectin deficiency–revisited. *Mol Immunol.* 2003;40(2–4):73-84.
468. Seelen MA, Roos A, Wieslander J, et al. Functional analysis of the classical, alternative, and MBL pathways of the complement system: standardization and validation of a simple ELISA. *J Immunol Methods.* 2005;296(1–2):187-198.
469. Furcron AE, Romero R, Plazyo O, Unkel R, Xu Y, Hassan SS, Chaemsaitong P, Mahajan A, Gomez-Lopez N. Vaginal progesterone, but not 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone caproate, has antiinflammatory effects at the murine maternal-fetal interface. *Am J Obstet Gynecol.* 2015 Dec;213(6):846.e1-846.e19.
470. Waites KB, Katz B, Schelonka RL. Mycoplasmas and ureaplasmas as neonatal pathogens. *Clin Microbiol Rev.* 2005 Oct;18(4):757-89.



471. Capoccia R, Greub G, Baud D. Ureaplasma urealyticum, Mycoplasma hominis and adverse pregnancy outcomes. *Curr Opin Infect Dis.* 2013 Jun;26(3):231-40.
472. Hickey DK, Patel MV, Fahey JV, Wira CR. Innate and adaptive immunity at mucosal surfaces of the female reproductive tract: stratification and integration of immune protection against the transmission of sexually transmitted infections. *J Reprod Immunol.* 2011 Mar;88(2):185-94.
473. Peltier MR, Berlin Y, Tee SC, Smulian JC. Does progesterone inhibit bacteria-stimulated interleukin-8 production by lower genital tract epithelial cells? *J Perinat Med.* 2009;37(4):328-33.
474. Kintner J, Schoborg RV, Wyrick PB, Hall JV. Progesterone antagonizes the positive influence of estrogen on Chlamydia trachomatis serovar E in an Ishikawa/SHT-290 co-culture model. *Pathog Dis.* 2015 Jun;73(4):ftv015.
475. Wan C, Latter JL, Amirshahi A, Symonds I, Finnie J, Bowden N, Scott RJ, Cunningham KA, Timms P, Beagley KW. Progesterone activates multiple innate immune pathways in Chlamydia trachomatis-infected endocervical cells. *Am J Reprod Immunol.* 2014 Feb;71(2):165-77.
476. Raghupathy R, Al-Mutawa E, Al-Azemi M, Makhseed M, Azizieh F, Szekeres-Bartho J. Progesterone-induced blocking factor (PIBF) modulates cytokine production by lymphocytes from women with recurrent miscarriage or preterm delivery. *J Reprod Immunol.* 2009 Jun;80(1-2):91-9.
477. Mao G, Wang J, Kang Y, Tai P, Wen J, Zou Q, Li G, Ouyang H, Xia G, Wang B. Progesterone increases systemic and local uterine proportions of CD4+CD25+ Treg cells during midterm pregnancy in mice. *Endocrinology.* 2010 Nov;151(11):5477-88.
478. Szekeres-Bartho J, Halasz M, Palkovics T. Progesterone in pregnancy; receptor-ligand interaction and signaling pathways. *J Reprod Immunol.* 2009 Dec;83(1-2):60-4.
479. Glaser K, Speer CP. Neonatal CNS infection and inflammation caused by Ureaplasma species: rare or relevant? *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2015 Feb;13(2):233-48.
480. Catov JM, Scifres CM, Caritis SN, Bertolet M, Larkin J, Parks WT. Neonatal outcomes following preterm birth classified according to placental features. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;216:411 e1-e14.
481. Sundtoft I, Uldbjerg N, Steffensen R, Sommer S, Christiansen OB. Polymorphisms in Genes Coding for Cytokines, Mannose-Binding Lectin, Collagen Metabolism and Thrombophilia in Women with Cervical Insufficiency. *Gynecol Obstet Invest.* 2016;81(1):15-22.
482. Minchinton RM, Dean MM, Clark TR, Heatley S, Mullighan CG. Analysis of the relationship between mannose-binding lectin (MBL) genotype, MBL levels and function in an Australian blood donor population. *Scand J Immunol.* 2002;56:630-641.

483. Annells MF, Hart PH, Mullighan CG, Heatley SL, Robinson JS, McDonald HM. Polymorphisms in immunoregulatory genes and the risk of histologic chorioamnionitis in Caucasoid women: a case control study. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2005 Feb 21;5(1):4.
484. Staude B, Oehmke F, Lauer T, Behnke J, Göpel W, Schloter M, Schulz H, Krauss-Etschmann S, Ehrhardt H. The Microbiome and Preterm Birth: A Change in Paradigm with Profound Implications for Pathophysiologic Concepts and Novel Therapeutic Strategies. *Biomed Res Int*. 2018 Oct 2;2018:7218187.
485. Fettweis JM, Serrano MG, Brooks JP, Edwards DJ, Girerd PH, Parikh HI, Huang B, Arodz TJ, Edupuganti L, Glascock AL, Xu J, Jimenez NR, Vivadelli SC, Fong SS, Sheth NU, Jean S, Lee V, Bokhari YA, Lara AM, Mistry SD, Duckworth RA 3rd, Bradley SP, Koparde VN, Orenda XV, Milton SH, Rozycki SK, Matveyev AV, Wright ML, Huzurbazar SV, Jackson EM, Smirnova E, Korlach J, Tsai YC, Dickinson MR, Brooks JL, Drake JI, Chaffin DO, Sexton AL, Gravett MG, Rubens CE, Wijesooriya NR, Hendricks-Muñoz KD, Jefferson KK, Strauss JF 3rd, Buck GA. The vaginal microbiome and preterm birth. *Nat Med*. 2019 Jun;25(6):1012-1021.
486. Kruse C, Rosgaard A, Steffensen R, Varming K, Jensenius JC, Christiansen OB. Low serum level of mannan-binding lectin is a determinant for pregnancy outcome in women with recurrent spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol*. 2002 Nov;187(5):1313-20
487. Kilpatrick DC. Mannan-binding lectin concentration during normal human pregnancy. *Hum Reprod*. 2000;15(4):941–3.
488. Kilpatrick DC, Starrs L, Moore S, Souter V, Liston WA. Mannan binding lectin concentration and risk of miscarriage. *Hum Reprod*. 1999;14(9):2379–80.
489. Vitagliano A, Noventa M, Gizzo S. Autoimmunity, systemic inflammation, and their correlation with repeated implantation failure and recurrent miscarriage: Is chronic endometritis the missing piece of the jigsaw? *Am J Reprod Immunol*. 2017 Jan;77(1).
490. Palarasah Y, Nielsen C, Sprogøe U, et al. Novel assays to assess the functional capacity of the classical, the alternative and the lectin pathways of the complement system. *Clin Exp Immunol*. 2011;164(3):388-395.
491. Sheng Y-R, Hu W-T, Wei C-Y, et al. Insights of efferocytosis in normal and pathological pregnancy. *Am J Reprod Immunol*. 2019;82(2):e13088.
492. Smith PB, Ambalavanan N, Li L, Cotten CM, Laughon M, Walsh MC, et al. Approach to infants born at 22 to 24 weeks' gestation: relationship to outcomes of more-mature infants. *Pediatrics*. 2012;129:1508–16.
493. Morgan AS, Marlow N, Draper ES, Alfrević Z, Hennessy EM, Costeloe K. Impact of obstetric interventions on condition at birth in extremely preterm babies: evidence from a national cohort study. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2016 Dec 13;16(1):390

494. Ehret DEY, Edwards EM, Greenberg LT, Bernstein IM, Buzas JS, Soll RF, Horbar JD. Association of Antenatal Steroid Exposure With Survival Among Infants Receiving Postnatal Life Support at 22 to 25 Weeks' Gestation. *JAMA Netw Open*. 2018 Oct 5;1(6):e183235.
495. Carlo WA, McDonald SA, Fanaroff AA, Vohr BR, Stoll BJ, Ehrenkranz RA, et al. Association of antenatal corticosteroids with mortality and neurodevelopmental outcomes among infants born at 22 to 25 weeks' gestation. *J Am Med Assoc*. 2011;306:2348–58.
496. Tyson JE, Parikh NA, Langer J, Green C, Higgins RD. Intensive care for extreme prematurity—moving beyond gestational age. *N Engl J Med*. 2008;358:1672–81
497. Deulofeut R, Sola A, Lee B, Buchter S, Rahman M, Rodigo M, et al. The impact of vaginal delivery in premature infants weighing less than 1,251 grams. *Obstet Gynecol*. 2005;105:525–31.
498. Lee HC, Gould J. Survival advantage associated with cesarean delivery in very low birth weight vertex neonates. *Obstet Gynecol*. 2006;107:97–105
499. Riskin A, Riskin-Mashiah S, Lusky A, Reichman B; Israel Neonatal Network. The relationship between delivery mode and mortality in very low birthweight singleton vertex-presenting infants. *BJOG*. 2004;111:1365–71.
500. Boland RA, Davis PG, Dawson JA, Doyle LW. Outcomes of infants born at 22–27 weeks' gestation in Victoria according to outborn/inborn birth status. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*. 2017;102:153–61.
501. Canadian Neonatal Network. Prediction of neonatal outcomes in extremely preterm neonates. *Pediatrics* 2013;132:876–85.
502. Koucký M, Malíčková K, Cindrová-Davies T, Germanová A, Pařízek A, Kalousová M, Hájek Z, Zima T. Low levels of circulating T-regulatory lymphocytes and short cervical length are associated with preterm labor. *J Reprod Immunol*. 2014 Dec;106:110-7. doi: 10.1016/j.jri.2014.04.001.
503. Koucký M, Malíčková K, Cindrová-Davies T, Smíšek J, Vráblíková H, Černý A, Šimják P, Slováčková M, Pařízek A, Zima T. Prolonged progesterone administration is associated with less frequent cervicovaginal colonization by *Ureaplasma urealyticum* during pregnancy - Results of a pilot study. *J Reprod Immunol*. 2016 Aug;116:35-41. doi: 10.1016/j.jri.2016.04.285.
504. Koucký M, Malíčková K, Kopřivová H, Cindrová-Davies T, Hrbáčková H, Černý A, Šimják P, Pařízek A, Zima T. Low maternal serum concentrations of mannose-binding lectin are associated with the risk of shorter duration of pregnancy and lower birthweight. *Scand J Immunol*. 2018 Jul;88(1):e12675. doi: 10.1111/sji.12675

505. Koucký M, Malíčková K, Kopřivová H, Cindrová-Davies T, Čapek V, Pařízek A. Serum mannose-binding lectin (MBL) concentrations are reduced in non-pregnant women with previous adverse pregnancy outcomes. *Scand J Immunol.* 2020 Jul;92(1):e12892. doi: 10.1111/sji.12892.

## Seznam zkratk

MBL - mannose binding lectin ( mannózu vázající lektin )

LBW - low birth weight ( novorozenci s nízkou porodní hmotností )

VLBW - very low birth weight ( novorozenci s velmi nízkou porodní hmotností )

ELBW - extremely low birth weight ( novorozenci s extrémně nízkou porodní hmotností )

PÚ - perinatální úmrtnost

PMR - perinatal mortality ( perinatální úmrtnost )

ČNÚ - časná novorozenecká úmrtnost

NÚ - novorozenecká úmrtnost

SBR - stillbirth ( mrtvorozenost )

ENMR - early newborn mortality rate ( časná novorozenecká úmrtnost )

VVV - vrozené vývojové vady

TNF-alfa - tumor nekrotizující faktor alfa

CARD6 - Caspase recruitment domain-containing protein 6

NLRP10 - NOD-like receptor family pyrin domain containing 10

NOD2 - Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2

TLR10 - Toll-like receptor 10

DEFB1 - Defensin Beta 1

MBL2 - mannose binding lectin 2 ( označení pro gen )

DAMPs - damage (danger) – associated molecular patterns

BMI - body mass index

AR - asistovaná reprodukce

PAMP - pathogen-associated molecular pattern

HSPs - heat shock proteins

HMGB-1 - high mobility group box-1

PRR - pattern-recognition receptor

CLR - C-lektinový receptor

NLR - NOD-like receptor

RLR - RIG-I-like receptor

TGF - transforming growth factor

MMP - matrixmetalloproteináza

cAMP - cyklický adenosinmonofosfát

S100A9 - S100 calcium binding protein A9

NF- kB - nukleární faktor kappa B

MIAC - microbial invasion of the amniotic cavity

FIRS - fetal inflamamatory response syndrome

SIRS - systemic inflammatory response syndrome

RDS - respiratory distress syndrome

IVH - intraventrikulární hemorrhagie

BPD - bronchopulmonární dysplazie

PVL - periventriculární leukomalacie

NEC - nekrotizující enterokolitis

TF - tkáňový faktor

TFPI - tissue factor pathway inhibitor 2

PP-5 - placentární protein 5

PR – progesteronový receptor

mPR - membránový progesteronový receptor

nPR - progesteronový receptor

PIBF - progesterone induced blocking factor

NK - natural killer cells

Th-2 lymfocyty - T helper 2 lymfocyty

TcR - T celulární receptor

CD - cluster designation, cluster of differentiation

FOXP3 - forkhead box P3

CTLA-4 - cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4

PD-1 - programmed cell death protein 1

TIGIT - T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains

ILCs - innate lymphoid cells

INF- $\gamma$  - interferon gama

uDC - uterine dendritic cells

DSCs - decidual stromal cells

HLA - Human Leukocyte Antigen

MHC - Major Histocompatibility Complex

IDO - indolamin 2,3-dioxygenáza

CST - community state types

PPROM - preterm prelabour rupture of membranes ( předčasný předtermínový odtok plodové vody )

PAMG-1 - Placental Alpha Microglobulin-1

IGFBP-1 - Insulin-Like Growth Factor binding protein-1

OR - odds ratio (poměr šancí)

RR – relativní riziko

fFN - fetální fibronektin

qPCR - qualitative polymerase chain reaction

DMO - dětská mozková obrna

MgSO<sub>4</sub> - magnesium sulfát

GBS – group B Streptococcus ( streptokok skupiny B )

fGR - fetal growth restriction ( růstová restrikce plodu)

PIBF - progesterone-induced blocking factor

VDR - vitamín D receptor

FR4 - folate receptor 4

FoXP3 - forkhead box protein 3

PGRMC1 - progesterone receptor membrane component 1

SP-A - surfactant protein A

SP-D - surfactant protein D

CL-L1 - collectin liver 1

CL-P1 - collectin placenta 1

CL-43 - conglutinin collectin 43 kDa

CL-46 - collectin 46 kDa

CL-K1 - collectin kidney 1

MASP - Mannose-binding lectin-Associated Serine Protease

MAC - membrane-attack komplex

ELISA – Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

Il-8 – interleukin-8