



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Никола Д. Јовић

**Повезаност експресије галектина-3 и
инфламацијских цитокина у
претерминском порођају са
хориоамнионитисом**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2023.



UNIVERZITET U KRAGUJEVCU
FAKULTET MEDICINSKIH NAUKA

Nikola D. Jović

**Povezanost ekspresije galektina-3 i
inflamacijskih citokina u
pretermijskom porođaju sa
horioamnionitisom**

Doktorska disertacija

Kragujevac, 2023.



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Nikola D. Jović

**Association between the expression of
galectin-3 and inflammatory cytokines
in
preterm delivery with chorioamnionitis**

Doctoral Dissertation

Kragujevac, 2023.

Аутор
Име и презиме: Никола Јовић
Датум и место рођења: 06. септембар 1987., Крагујевац, Србија
Садашње запослење: Специјалиста гинекологије и акушерства, Клиника за гинекологију и акушерство, Универзитетски клинички центар у Крагујевцу Асистент на Катедри за гинекологију и акушерство, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу
Докторска дисертација
Наслов: Повезаност експресије галектина-3 и инфламацијских цитокина у претерминском порођају са хориоамнионитисом
Број страница: 151
Број слика: 39 слика, 37 графикона, 8 табела
Број библиографских података: 434
Установа и место где је рад израђен: Клиника за гинекологију и акушерство Универзитетског клиничког центра у Крагујевцу и Центар за молекуларну медицину, Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу
Научна област (УДК): медицина
Ментор: Проф. др Мирјана Варјачић, редовни професор, Катедра за гинекологију и акушерство, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу
Оцена и одбрана
Датум пријаве теме: 30.12.2022. године
Број одлуке и датум прихватања теме докторске дисертације: Одлука број IV-03-72/24 од 21.02.2023. године
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњеност услова кандидата: 1. Проф. др Жељко Миковић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област Гинекологија и акушерство, председник 2. Проф. др Јелена Миловановић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Хистологија и ембриологија, члан 3. Доц. др Горан Бабић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан
Комисија за оцену и одбране докторске дисертације: 1. Проф. др Жељко Миковић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област Гинекологија и акушерство, председник 2. Проф. др Јелена Миловановић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Хистологија и ембриологија, члан 3. Доц. др Горан Бабић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан
Датум одбране дисертације:

Autor
Ime i prezime: Nikola Jović
Datum i mesto rođenja: 06. septembar 1987., Kragujevac, Srbija
Sadašnje zaposlenje: Specijalista ginekologije i akušerstva, Klinika za ginekologiju i akušerstvo, Univerzitetski klinički centar u Kragujevcu Asistent na katedri za ginekologiju i akušerstvo, fakultet medicinskih nauka, univerzitet u Kragujevcu
Doktorska disertacija
Naslov: Povezanost ekspresije galektina-3 i inflamacijskih citokina u pretermijskom porođaju sa horioamnionitisom
Broj stranica: 151
Broj slika: 39 slika, 37 grafikona, 8 tabela
Broj bibliografski podataka: 434
Ustanova i mesto gde je rad izrađen: Klinika za ginekologiju i akušerstvo Univerzitetskog kliničkog centra u Kragujevcu i Centar za molekularnu medicinu, Fakulteta medicinskih nauka, Univerziteta u Kragujevcu
Naučna oblast (UDK): medicina
Mentor: Prof. dr Mirjana Varjačić, redovni profesor, Katedra za ginekologiju i akušerstvo, Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu
Ocena i odbrana
Datum prijave teme: 30.12.2022. godine
Broj odluke i datum prihvatanja teme doktorske disertacije: Odluka broj IV-03-72/24 od 21.02.2023. godine
Komisija za ocenu naučne zasnovanosti teme i ispunjenost uslova kandidata: 1. Prof. dr Željko Miković, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, za užu naučnu oblast Ginekologija i akušerstvo, predsednik 2. Prof. dr Jelena Milovanović, vanredni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu, za užu naučnu oblast Histologija i embriologija, član 3. Doc. dr Goran Babić, docent Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu, za užu naučnu oblast Ginekologija i akušerstvo, član
Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije: 1. Prof. dr Željko Miković, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, za užu naučnu oblast Ginekologija i akušerstvo, predsednik 2. Prof. dr Jelena Milovanović, vanredni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu, za užu naučnu oblast Histologija i embriologija, član 3. Doc. dr Goran Babić, docent Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu, za užu naučnu oblast Ginekologija i akušerstvo, član
Datum odbrane disertacije

Author
Name and surname: Nikola Jović
Date and place of birth: 06. september 1987., Kragujevac, Srbija
Current employment: Specialist of Gynaecology and Obstetrics, Clinic for Gynaecology and Obstetrics, University Clinical Centre, Kragujevac Teaching Assistant at the Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
Doctoral Dissertation
Title: Association between the expression of galectin-3 and inflammatory cytokines in preterm delivery with chorioamnionitis
No. of pages: 151
No. of images: 39 figures, 37 graphs, 8 tables
No. of bibliographic data: 434
Institution and place of work: Clinic for Gynaecology and Obstetrics, University Clinical Centre, Kragujevac and Center for Molecular Medicine, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
Scientific area (UDK): medicine
Mentor: PhD, Mirjana Varjačić, Full Professor, Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty of Medical Sciences University of Kragujevac
Grade and Dissertation Defense
Topic Application Date: 30.12.2022.
Decision number and date of acceptance of the doctoral: Decision number IV-03-72/24 date 21.02.2023.
Commission for evaluation of the scientific merit of the topic and the eligibility of the candidate: 1. PhD Željko Miković, Full Professor at Medical Faculty University of Belgrade, for narrow scientific field Gynecology and Obstetrics, president 2. PhD Jelena Milovanović, Associate Professor at Faculty of Medical Sciences University of Kragujevac for narrow scientific field Histology and embryology, member 3. PhD Goran Babić, Assistant Professor at Faculty of Medical Sciences University of Kragujevac for narrow scientific field Gynecology and Obstetrics, member
Commission for evaluation and defense of doctoral: 1. PhD Željko Miković, Full Professor at Medical Faculty University of Belgrade, for narrow scientific field Gynecology and Obstetrics, president 2. PhD Jelena Milovanović, Associate Professor at Faculty of Medical Sciences University of Kragujevac for narrow scientific field Histology and embryology, member 3. PhD Goran Babić, Assistant Professor at Faculty of Medical Sciences University of Kragujevac for narrow scientific field Gynecology and Obstetrics, member
Date of Dissertation Defense:

ЗАХВАЛНИЦА

Изузетну захвалност дугујем својој менторки проф. др Мирјани Варјачић на несебичној помоћи, пруженом знању, професионалном усмеравању и указаном поверењу. Велика је част и задовољство имати таквог ментора, учитеља, а надасве целоживотног пријатеља.

Срдачно се захваљујем проф. др Марији Миловановић на помоћи при реализацији ове докторске дисертације, од иницијалне идеје до крајње реализације. Од професорке сам научио како се једном научном делу приступа са пуно знања, посвећености, ентузијазма и стрпљења.

Посебну захвалност дугујем декану Факултета медицинских наука, проф. др Владимиру Јаковљевићу, на неизмерној помоћи и подршци, не само личној, већ и целокупној нашој породици. Изузетна је привилегија познавати и учити од професора Јаковљевића.

Неизмерно сам захвалан и проф. др Слободанки Митровић на бројним професионалним саветима, несебичној и стручној помоћи око припреме материјала за истраживање.

Захвалност дугујем и читавом тиму Центра за молекуларну медицину, Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу на исцрпној, свеобухватној вишегодишњој помоћи око израде експерименталног дела ове дисертације.

Захваљујем се и члановима комисије на рационалном, добронамерном, критичком приступу при оцени овог научног пројекта...

На крају, али никако мање важно, захвалан сам својој породици, својим родитељима Снежги и Драгану, мојој највећој подршци и мом највећем ослоњу мојој Јовани, њеним родитељима Цеци и Бобану и мојим синовима, Филипу и Матеји... Захвалан сам им на помоћи, на стрпљењу, на љубави, на разумевању, на моралној подршци које су несебично уложили у наш заједнички успех...

Захвалан сам им на времену... које им дугујем...

Ову докторску дисертацију управо и посвећујем својој породици, а посебно мојим највећим животним успесима... мојим поносима – Филипу и Матеји...

Никола Д. Јовић

САЖЕТАК

Патогенетски механизми настанка претерминског порођаја (ПП) су недовољно испитани. Најчешћи разлог ПП је инфламацијска реакција, преобладајно по типу хориоамнионитиса, у којој учествују инфламацијски цитокини IL-1 β и IL-6. Иако је у разним акутним и хроничним инфламацијским болестима показано да GAL-3 стимулише продукцију IL-1 β и IL-6, није испитивана удруженост експресије GAL-3 и ових цитокина у случајевима ПП.

Анализирали смо експресију IL-1 β , IL-6 и GAL-3 у ткиву постељице и плодових овојака, као и концентрацију ових молекула у серуму добијеном из периферне крви мајке и крви пупчаника. Испитивали смо корелацију између експресије IL-1 β , IL-6, GAL-3 у ткиву постељице и плодових овојака, као и концентрације у серуму међусобно, али и са биохемијским маркерима инфламације (Le, CRP, фибриноген) из крви мајке и пупчаника.

Наша студија је показала повећану експресију IL-1 β и GAL-3 у ткиву постељице, али и у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са претерминским порођајем и доказаним хориоамнионитисом, у односу на контролну групу. Такође утврђена је позитивна корелација између IL-1 β и GAL-3 у наведеним ткивима међусобно, као и са биохемијским маркерима инфламације (леукоцити, CRP, фибриноген) из крви мајке и пупчаника. Наша студија није нашла корелацију између експресије IL-6 у ткиву постељице и плодових овојака и концентрације овог цитокина из серума мајке и пупчаника са експресијом и концентрацијом IL-1 β и GAL-3 у наведеним ткивима.

Наша студија је прва која се показала експресију испитиваних цитокина и њихову међусобну корелацију у различитим компартманима постељице (плодови овојци, хорионске ресице и децидуа), као и њихову корелацију са биохемијским маркерима инфламације.

Кључне речи: претермински порођај, хориоамнионитис, IL-1 β , IL-6, GAL-3

ABSTRACT

Pathogenetic mechanisms of preterm birth (PB) have been insufficiently investigated. The most common cause of PB is an inflammatory reaction, predominantly chorioamnionitis, where the inflammatory cytokines IL-1 β and IL-6 participated. Although it has been shown in various acute and chronic inflammatory diseases that GAL-3 stimulates the production of IL-1 β and IL-6, the association between the expression of GAL-3 and these cytokines in PB has not been investigated yet.

We analyzed the expression of IL-1 β , IL-6 and GAL-3 in the tissue of the placenta and fetal membranes, as well as the concentration of these molecules in the serum obtained from maternal peripheral blood and umbilical cord blood. We examined the correlation between the expression of IL-1 β , IL-6, GAL-3 in the tissue of the placenta and fetal membranes, as well as their serum concentrations, but also with biochemical markers of inflammation (WBC, CRP, fibrinogen) from maternal and umbilical cord blood.

Our study showed increased expression of IL-1 β and GAL-3 in placenta tissue, but also in maternal and umbilical cord serum in the group with preterm delivery and proven chorioamnionitis, compared to the control group. A positive correlation was also established between IL-1 β and GAL-3 in the mentioned tissues, as well as with biochemical markers of inflammation (WBC, CRP, fibrinogen) from maternal and umbilical cord blood. Our study did not find a correlation between the expression of IL-6 in the tissue of the placenta and fetal membranes and the serum concentration of this cytokine from mother and the umbilical cord samples with the expression and concentration of IL-1 β and GAL-3 in the mentioned tissues.

Our study is the first to demonstrate the expression of the investigated cytokines and their mutual correlation in different compartments of the placenta (fetal membranes, chorionic villi and decidua), as well as their correlation with biochemical markers of inflammation.

Keywords: preterm birth, chorioamnionitis, IL-1 β , IL-6, GAL-3

САДРЖАЈ

1. УВОД	1
1.1. Хориоамнионитис	2
1.1.1. Преваљенција хориоамнионитиса	2
1.1.2. Хистолошки хориоамнионитис	3
1.1.3. Инфективни хориоамнионитис	5
1.1.4. Клинички хориоамнионитис	7
1.1.5. Биохемијски хориоамнионитис	8
1.2. Уопштено о цитокинима	10
1.2.1. Интерлеукин 33 (IL-33)	11
1.2.2. Интерлеукин 1 (IL-1)	18
1.2.3. Галектин 3 (GAL-3)	24
1.2.4. Интерлеукин 6 (IL-6)	28
2. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА	33
2.1. Циљеви и хипотезе истраживања	34
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	35
3.1. Врста студије	36
3.2. Место обављања истраживања	36
3.3. Испитаници	36
3.4. Укључујући и искључујући критеријуми	37
3.4.1. Бишопов (Bishop) скор	38
3.5. Врста биолошког материјала	39
3.6. Узорковање биолошког материјала	39
3.6.1. Узорковање крви из кубиталне вене	39
3.6.2. Узорковање крви из вене пупчаника	40
3.6.3. Узорковање цервиковагиналног бриса	40
3.6.4. Узорковање постеличног ткива	40
3.7. Достављање и чување биолошког материјала	41
3.8. Евалуација биохемијских параметара у серуму	42
3.9. Засејавање цервиковагиналног бриса	42
3.10. Обрада биолошког материјала	43
3.10.1. Обрада ткива и припрема за бојење	43
3.10.2. Бојење хематоксилин-еозин хистохемијском техником	44
3.10.3. Имунохистохемија	45
3.10.4. ELISA (Enzyme-Linken Immunosorbent Assay)	48

3.10.5. PCR (Polymerase Chain Reaction)	49
3.11. Статистичка обрада података.....	50
4. РЕЗУЛТАТИ	51
4.1. Опште карактеристике испитаница	52
4.1.1. Подела испитаница према времену наступања порођаја.....	52
4.1.2. Подела испитаница на основу хистолошке анализе постелјичног ткива.....	52
4.1.3. Подела испитаница на основу гестацијске старости.....	52
4.1.4. Подела испитаница према годинама живота	53
4.1.5. Подела испитаница на основу укупног броја претходних порођаја.....	55
4.1.6. Подела испитаница на основу броја претходних претерминских порођаја.....	56
4.1.7. Подела испитаница на основу иницијалног знака/симптома покретања порођаја	57
4.1.8. Подела испитаница на основу животних навика.....	58
4.2. Карактеристике патохистолошких препарата	60
4.3. Микробиолошке карактеристике	62
4.3.1. Повезаност микробиолошке анализе цервиковагиналног бриса у експерименталној групи и контролној групи	62
4.3.2. Повезаност микробиолошке анализе цервиковагиналног бриса према гестацијској старости	64
4.3.3. Повезаност микробиолошке анализе цервиковагиналног бриса према иницијалном знаку/симптому покретања порођаја.....	65
4.4. Биохемијске карактеристике	66
4.4.1. Биохемијске карактеристике из крви мајке и крви пупчаника у експерименталној и контролној групи.....	66
4.4.2. Биохемијске карактеристике из крви мајке и крви пупчаника код испитаница према гестацијској старости	67
4.4.3. Биохемијске карактеристике из крви мајке и крви пупчаника код испитаница са присутном и одсутном цервиковагиналном инфекцијом	69
4.4.4. Биохемијске карактеристике из крви мајке и крви пупчаника код испитаница са руптуром плодових овојака и са порођајним боловима (без руптуре плодових овојака) као доминантним знаком/симптомом покретања порођаја	70
4.5. Имунохистохемијске (ИНС) анализе	71
4.5.1. Експресија IL-1 β у плодовим овојцима и ткиву постелјице у експерименталној и контролној групи.....	71
4.5.2. Експресија IL-6 у плодовим овојцима и ткиву постелјице у експерименталној и контролној групи.....	74
4.5.3. Експресија GAL-3 у плодовим овојцима и ткиву постелјице у експерименталној и контролној групи.....	77
4.5.4. Експресија IL-33 у плодовим овојцима и ткиву постелјице у експерименталној и контролној групи.....	79
4.6. PCR анализа	80

4.6.1. Експресија испитиваних цитокина у ткиву постелице у експерименталној и контролној групи.....	80
4.6.2. Експресија испитиваних цитокина у ткиву постелице у групи са и групи без присутне цервикагинална инфекције	84
4.6.3. Експресија испитиваних цитокина у ткиву постелице у групи са руптуром плодовак овојака и групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја	88
4.7. ELISA анализе	92
4.7.1. Концентрација испитиваних цитокина у серуму мајке и серуму пупчаника у експерименталној и контролној групи	92
4.7.2. Концентрација испитиваних цитокина у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са и групи без присутне цервикагинална инфекције	96
4.7.3. Концентрација испитиваних цитокина у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са руптуром плодовак овојака и групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја	100
4.8. Анализа повезаности биохемијских параметара инфламације и испитиваних цитокина у серуму мајке, серуму пупчаника и ткиву постелице.....	104
4.8.1. Постоји међусобна корелација између биохемијских параметара инфламације из серума мајке	104
4.8.2. Постоји међусобна корелација између биохемијских параметара инфламације из серума пупчаника	105
4.8.3. Постоји међусобна корелација између биохемијских параметара инфламације из серума мајке са између биохемијским параметрима инфламације из серума пупчаника..	106
4.8.4. Постоји корелација између биохемијских параметара инфламације из серума мајке и релативне експресије IL-1 β и GAL-3 у ткиву постелице.....	109
4.8.5. Постоји корелација између биохемијских параметара инфламације из серума пупчаника и релативне експресије IL-1 β и GAL-3 у ткиву постелице.....	112
4.8.6. Постоји корелација између релативне експресије IL-1 β и релативне експресије GAL-3 у ткиву постелице.....	115
4.8.7. Постоји корелација између релативне експресије IL-1 β у ткиву постелице и концентрације IL-1 β из серума мајке и серума пупчаника.....	116
4.8.8. Постоји међусобна корелација између концентрације IL-1 β и GAL-3 из серума мајке и са концентрацијама IL-1 β и GAL-3 из серума пупчаника.....	117
4.8.9. Постоји корелација између биохемијских параметара инфламације из серума мајке са концентрацијом IL-1 β из серума мајке и серума пупчаника и са концентрацијом GAL-3 из серума мајке	118
4.8.10. Постоји корелација између биохемијских параметара инфламације из серума пупчаника са концентрацијом IL-1 β из серума мајке и серума пупчаника и са концентрацијом GAL-3 из серума мајке	121
4.8.11. Постоји корелација између биохемијских параметара инфламације из серума мајке и експресије IL-1 β и GAL-3 у одређеним деловима постелице	124
4.8.12. Постоји корелација између биохемијских параметара инфламације из серума пупчаника и експресије IL-1 β и GAL-3 у одређеним деловима постелице	128

4.8.13. Постоји међусобна корелација између експресије IL-1 β и GAL-3 у одређеним деловима постељице	132
5. ДИСКУСИЈА	135
6. ЗАКЉУЧЦИ	148
ЛИТЕРАТУРА	151

1. УВОД

1.1. Хориоамнионитис

Значај постелице, као привременог органа, дефинисан је једном једноставном реченицом: “постелица представља дневник гестацијског живота” (1). Она одражава не само интраутеринско окружење, већ пружа и драгоцене податке везане за патологију мајке (2,3). Представља изузетно комплексан орган, мултифункционалан и још увек недовољно испитан. Састоји се из три главне целине: плацентног диска, хориоамнионске мембране и пупчане врпце (4,5). Уколико инфламаторна реакција захвати плацентни диск реч је о плацентитису. У литератури се користе појам вилитиса, као инфламације хорионских ресица (4,5). Међутим, ова два појма не треба посматрати као синониме, већ различитим стадијумима истог инфламаторног процеса. Ако инфламаторни процес захвати пупчану врпцу назива се фунизитисом (6,7).

Термин хориоамнионитис се дословно односи на инфламаторну реакцију која се одвија у плодовим овојцима (амниону и хориону) (8). Хориоамнионске мембране чине најудаљенији део концептуса (9). Оне с једне стране представљају границу, а са друге стране везу између мајке и плода. Инфламација се може јавити изоловано као амнионитис или хорионитис, мада је најчешћа форма сублимирајућег инфламаторног процеса (8). Препорука Националног института за здравље Сједињених Америчких Држава (*National Institutes of Health - NIH*) је прелазак аутолошког на хетеролошки опсег дефиниције хориоамнионитиса, који укључује и инфламацију децидуе и плодове воде (8).

На основу брзине настанка, разликујемо акутни и хронични хориоамнионитис. Патофизиолошки аспект обухвата поделу на инфективни и асептични (4). Према одсуству/присуству клиничких знакова постоји клинички и асимптоматски (10,11), док поједни аутори овој подели додају и хистолошки, микробиолошки и биохемијски хориоамнионитис (12). Осим поделе на акутни и хронични, све остале поделе имају изражене недостатке. Ипак не постоји јединствени консензус када је реч о подели хориоамнионитиса, због непрецизних и хетерогених дефиницијских елемената (8), нераздевања комплексних молекулских механизма и мањкавости таксономије (13). Пример је хистолошки хориоамнионитис (као најчешћа форма), који се не односи само на клинички, већ и на асимптоматски, инфективни и асептични хориоамнионитис (14).

Иако је претходно наведена подела од значаја за разумевање патофизиологије и испољавања клиничког тока хориоамнионитиса, у практичном смислу она није једноставно применљива. Тако хистолошки хориоамнионитис може бити акутног и хроничног тока, клинички хориоамнионитис може бити инфективан и асептичан, док сваки хистолошки хориоамнионитис не мора бити клинички испољен, нити у основи инфективне етиологије.

1.1.1. Преваљенција хориоамнионитиса

Процена учесталост хориоамнионитиса је 2-4% код порођаја у термину (15,16) и 40-70% претерминских порођаја (15,17). Учесталост акутног хориоамнионитиса је обрнуто пропорционална гестацијској старости. Код порођаја насталих између 21.-24. недеље трудноће јавља се у 94.4% случајева (4), а у термину (преко 37. недеље трудноће) <5% (18). Хронични хориоамнионитис се јавља у 34% претерминских порођаја, од којих код 39% са руптуром плодових овојака (19,20), а посебно је чест у касним претерминским порођајима до чак 70% доказаних случајева (19,21). То доказује да је његова учесталост директно пропорционална гестацијској старости код претерминских порођаја.

Хистолошка анализа плаценте, као златног стандарда, показала је хориоамнионитис у 33% претерминских порођаја са очуваним плодовим овојцима и у чак 80% претерминских порођаја са руптуром плодовых овојака (*Preterm premature rupture of the membranes - PPRM*) (9,22). *Nasef* и сарадници прате учесталост хистолошког хориоамнионитиса у односу на гестацијску старост: 41% код порођаја насталих до пуне 27. недеље, 15% између 28. и 36. недеље и свега 2% порођаја после 37. недеље (23,24). Хистолошки хориоамнионитис у терминском порођају је заступљен са 20% (25,26). Изражена разлика у учесталости хистолошког хориоамнионитиса у терминским порођајима (од 2% до 20%) је техничке природе, јер је хистопатолошка анализа постељице вршена само у оним случајевима где је постојала клинички оправдана сумња на хориоамнионитис. Ипак, ближи смо чињеници да је, због мањкавости клиничког испољавања, проценат хориоамнионитиса у терминским порођајима знатно већи у односу на претпостављени (27). Ово објашњава делимично преклапање две форме хориоамнионитиса – клиничке и хистолошке.

Хориоамнионитис је повезан са интраамнионском инфекцијом. У чак 72% случајева претерминских порођаја, изоловање бактерија из плодове воде прати и хистопатолошку потврду хориоамнионитиса (9). Међутим, само присуство микроорганизама у плодовој води није довољно да би настао, а посебно не потврдио хориоамнионитис (9). У студијама, проценат неинфективног хистолошког хориоамнионитиса се креће од <30% (27) до >50% (28). Ово објашњава делимично преклапање хистолошког и инфективног хориоамнионитиса.

Узевши у обзир клиничке критеријуме, хориоамнионитис се као такав, препознаје у 5-12% трудноћа у термину (29,30) и скоро 20% трудноћа са превременом руптуром плодовых овојака (14,31). Код 54% пацијената са клиничком сликом хориоамнионитиса се детектује интраамнионска инфламација са присутним микоорганизмима, код 24% интраамнионска инфламација без детектованих микроорганизама, док 22% нема интраамнионску инфекцију (29,32). Ово објашњава делимично преклапање две форме хориоамнионитиса – клиничке и инфективне.

1.1.2. Хистолошки хориоамнионитис

Златни стандард у постављању дијагнозе хориоамнионитиса је хистопатолошка анализа (13). Иако са највећом специфичношћу, сензитивност ове дијагностичке процедуре је прилично ниска. О томе нам говори податак слабе повезаности хистолошки доказаног хориоамнионитиса и синдрома феталног инфламаторног одговора (*Fetal inflammatory response syndrome - FIRS*) - компликација код фетуса насталих као последица хориоамнионитиса (33). Хистолошки хориоамнионитис је ипак свеобухватно најкомплетнији и са најмање лажно негативних случајева.

Акутни хистолошки хориоамнионитис (АХХ) се дефинише као акутна инфилтрација гранулоцита (неутрофила) хориодецидуалног простора (порекла мајке) и хориоамнионских мембрана, хорионских чупица, плодове воде и пупчане врпце (порекла фетуса) (25). Тачно порекло инфламације може се прилично једноставно одредити анализом порекла неутрофила (4).

Неутрофили обично нису присутни у хориоамнионским мембранама и мигрирају из децидуе у плодове овојке у случају акутне инфламације (неутрофили мајчиног порекла) (4,34). Међутим, њихово присуство је физиолошко у интервилозним просторима постељице (због мешања крви мајке и плода), али не и у хорионској плочи (4,35). Хемотактички градијент их повлачи из интервилозних простора у

хориоамнионске мембране и хорионску плочу, што објашњава мајчино порекло неутрофила у акутном хориоамнионитису (преко 90%) (35).

Акутни фунизитис, вилитис и инфламација плодове се одликују инфилтрацијом неутрофила феталног порекла (36). Испитивања показују већу заступљеност интерлеукина 8 (*Interleukin 8 – IL-8*) као хемотактичног чиниоца, као и већу експресију гена који повећавају склоност ка инфламаторном одговору у зиду пупчане вене него артерије (37). Пупчана вена је први суд који показује инфламаторне промене, док је пупчани артеритис знак унапредовале инфламације и носи већи ризик за неонаталне компликације (2,26). То објашњава зашто у лабораторијским анализама крви из пупчаника најпре пунктирамо вену (са сврхом ране детекције инфламације). Најозбиљнији облик фунизитиса је миграција неутрофила у Вартонову пихтију (4,37). Такав облик инфламације назива се некротизирајућим фунизитисом (12). Ипак фунизитис је присутан у само око 60% случајева (14,38).

Хистолошка анализа постелице код доказаног хориоамнионитиса, на основу локализације неутрофила, дефинише три стадијума инфламације (2):

- **акутни хистолошки хориоамнионитис 1 (АХХ1)** се одликује инфламацијом децидуе и хориоамнионског простора. То су прва ткива која су захваћена инфламаторним процесом неутрофилима мајчиног порекла (25). Најчешће се детектује анализом постелица из терминског порођаја (после 37. недеље) и сматра се да је покренут инфламаторним одговором (обично асептичним) који се налази у физиолошком механизму покретања порођаја (25,26). У литератури се користе аналоги децидуитис са/без хориоамнионитиса унутар плодоваих овојака.
- **акутни хистолошки хориоамнионитис 2 (АХХ2)** се одликује инфламацијом амниона и/или хориона без захватања пупчаника, тј. инфилтрацијом неутрофила углавном феталног порекла. Најчешћи је у порођајима између 32. и 36. недеље гестације и најзаступљенији је облик хистолошког хориоамнионитиса (2).
- **акутни хистолошки хориоамнионитис 3 (АХХ3)** представља унапредовали инфламаторни процес који се јавља у раним претерминским порођајима (< 32. недеље) (2,25). Одликује се интензивним феталним инфламаторним одговором и представља коначни степен екстраплацентарне хориоамнионске инфламације (39,40) са неутрофилном инфилтрацијом пупчане врпце. Синоним је за некротизирајући фунизитис.

Хистолошки хориоамнионитис акутног порекла је чешћи и комплекснији код претерминских у односу на терминске порођаје (41), а чак три пута чешћи у односу на клинички хориоамнионитис. У терминским порођајима се јавља са учесталошћу 7-85% (предоминантно АХХ1), док је заступљеност у претерминским порођајима 4-63% (предоминантно АХХ2 и АХХ3) (42). Друга студија је нешто прецизнија и показује учесталост хистолошког хориоамнионитиса у 20% терминских порођаја и 38-50% претерминских порођаја (43).

Хронични хистолошки хориоамнионитис (ХХХ) се дефинише као хронична инфилтрација плаценте (децидуе, хориоамнионских мембрана, хорионске плоче и хорионских чупица) лимфоцитима, плазма ћелијама и/или макрофагима (19,44). У највећем проценту случајева, етиологија хроничног хориоамнионитиса је непозната (45), мада се као разлог наводе инфективни агенси и фетоматерални имунски одговор (по типу одбацивања алографта) (20,46-52).

У прилог последњој теорији наводи се покретање имунског одговора мајке (домаћина) на антигене оца (изражене у постелици, али и у фетусу). Главни ефектор овог

имунског одговора су цитотоксични Т лимфоцити (*CD8+ T lymphocytes - CD8+TLy*) (20,45,53). Ово стање је повезано са присуством феталних хуманих антитела на леукоците у мајчином серуму и синциотиотрофобласту (54).

Хронични хориоамнионитис у ужем смислу се одликује инфилтрацијом мононуклеарних ћелија у хориоамнионским мембранама. Долази до дифузне или неравномерне инфилтрације мајчиних *CD8+TLy* из децидуе, при чему је примарни локус интеракција ових ћелија са трофобласним ћелијама у зони глатког хориона (*chorion laeve*) (20) и последична апоптоза ћелија трофобласта. Миграција *CD8+TLy* подстакнута је хемотактичним чиниоцима (*C-X-C motif chemokine ligand 9, 10, 11 – CXCL-9, CXCL-10, CXCL-11*) из хориоамнионских опни (55-64). У нормалним условима не долази до инфламаторне реакције у хориодецидуалном споју, захваљујући експресији неполиморфних хуманих леукоцитарних антигена G (*Human leukocyte antigen-G - HLA-G*) трофобластима (65-68) и недостатку експресије Т ћелијског (*T-cell*) гена за хемокине у децидуалним ћелијама (69).

Градација хроничног хистолошког хориоамнионитиса је одређена на основу степена инфилтрације лимфоцитима:

- градус 0 – без инфилтрације;
- градус 1 – преко 2 жаришта инфилтрације или неуједначена инфилтрација;
- градус 2 – дифузна инфилтрација (19).

Хронични хориоамнионитис у ширем смислу подразумева и хронични вилитис, као и хронични децидуитис. **Хронични вилитис** се одликује инфилтрацијом *CD8+TLy* мајчиног порекла (53), као и макрофага који су феталног порекла (Хофбаурове ћелије) (70). То је јединствени инфламаторни процес у коме учествују инфламаторне ћелије пореклом из два различита домаћина. Миграција *CD8+TLy* подстакнута је хемотактичним чиниоцима *CXCL-9, CXCL-10* и *CXCL-11* из макрофага, ендотелних ћелија и стромалних ћелија (46). **Хронични децидуитис** се дијагностикује присуством лимфоцита и плазма ћелија у децидуи (71).

1.1.3. Инфективни хориоамнионитис

Позитивне бактеријске културе нађене су у 10% постељица из терминских порођаја, 18% постељица претерминских порођаја између 32.-36. недеље трудноће, док је највећи проценат постељица (39%) са позитивним бактеријским културама из порођаја пре 32. недеље трудноће (2). Хистолошки потврђен хориоамнионитис, налази се у 72% случајева постељица претерминских порођаја код којих је амниоцентезом нађена микробиолошка инвазија плодове воде (9). Занимљиво је да је код 40-60% случајева нађено асептично интраамнионско запаљење код верификованог хистолошког хориоамнионитиса (72-75).

Иако етиологија хориоамнионитиса остаје недовољно истражена, не може се оспорити утицај микроорганизама, а пре свега бактерија. Сматра се да је развој инфективног (микробиолошког) хориоамнионитиса само један од стадијума у развоју интраамнионске инфекције. Остаје дилема да ли је интраамнионска инфекција узрок или последица хориоамнионитиса (9)? Исто тако, није потпуно јасно да ли је хориоамнионитис узрок или последица PPRM-а и претерминског порођаја (9,76)?

Међутим, не значи свако присуство микроорганизама у плодовој води, и присуство истих у постељници. Такође, не значи ни развој хориоамнионитиса. За то постоји низ оправданих објашњења: не може се дефинисати критична концентрација

микроорганизама као индуктора хориоамнионитиса и следственог претерминског порођаја. (77-81). Друго, ензими готово свих микроорганизама нису довољни, сами по себи, да изазову хориоамнионитис и претермински порођај. Зато се сматра да је имунски систем домаћина покренут на микроорганизме (или њихове партикуле) одговоран за настанак хориоамнионитиса (82-84).

Занимљива је чињеница да је акутни хистолошки хориоамнионитис нађен у 37% случајева са негативним налазом микроорганизама у плодовој води (85). У студији *Donga* и сарадника узорак плодове воде је узоркован амниоцентезом, непосредно пред порођај (до 48h) (85). Трансцервикални приступ је искључен јер повећава стопу секундарне контаминације, као и број лажно позитивних резултата.

Бактерије представљају најчешћи узрочник инфективног хориоамнионитиса. Бактеријска дезоксирибонуклеинска киселина - ДНК (*Deoxyribonucleic acid - DNA*) је откривена у 50% случајева, а порекло микроорганизама се кретало од вагинаног до оралног (86). С обзиром на гестацијску старост, грам позитивне бактерије су откривене у постелици у 17%, а грам негативне бактерије у 10% случајева порођаја пре 32. недеље. 11% постелица је имало присуство грам позитивних, а 8% грам негативних бактерија код порођаја између 32. и 36. недеље трудноће. У термину се у постелици налазе грам позитивне бактерије у 5%, а грам негативне у 4% (2).

У нормалним условима амнионска шупљина је стерилна за микроорганизме (4). Најчешћи пут ширења инфекције је усходни из доњег гениталног тракта. Међутим, слузни чеп преставља анатомску и функционалну препреку ширењу инфекције (87-93). Заштитну улогу у спречавању ширења инфекције имају и плодови овојци, мада они не представљају апсолутну баријеру. Није неопходно да они руптурирају да би бактерије биле присутне у амнионској шупљини. У прилог томе говори чињеница утврђивања иницијалне инфекције децидуе у супрацервикалном региону. Накнадно долази до умножавања бактерија и њиховог проласка кроз хориоамнионске мембране (94,95).

Бактерије су чешће откривене у амнионској течности него у хориоамнионским мембранама (100% наспрам 33%) (96). Такође, бактерије се могу наћи у хориоамнионској опни (вероватно као иницијални степен инвазије), иако се као такве не могу изоловати из плодове воде (97). Сматра се да се тада неће десити покретање претерминског порођаја, већ тек када бактерије инвадирају амнионску шупљину (98). Тада се активира снажна инфламаторна реакција са порастом концентрације проинфламаторних цитокина и хемокина (4).

Хематогена дисеминација микроорганизама повезана је са крвотоком мајке. У прилог овој околности говори чињеница чешћих интраамнионских инфекција и чешћих хориоамнионитиса код жена са пародонталним болестима (99,100). Микроорганизми долазе до интервилозних простора, врше инвазију хорионских ресица и улазе у циркулацију фетуса (101). Јатрогено се инфекција може унети у амнионску шупљину у току дијагностичких или терапијских процедура, док је ретроградни пут уноса инфекције из трбушне дупље кроз шупљину јајовода дискутабилан (102).

Процент потврђених бактеријских култура је директно пропорционалан тежини хистолошког хориоамнионитиса. Бактерије се изолују 18% случајева АХХ3, 12% случајева АХХ2 и само 4% случајева АХХ1 (2). Такође, бактеријска култура у постелицама је била позитивна у 39% претерминских порођаја и 10% порођаја у термину (2).

Најчешће изоловане бактерије у плодовој води су *Ureaplasma urealiticum* (47%), грам негативни анаероби (38.4%), *Mycoplasma hominis* (30.4%), *Bacteroides bivius* (29.5%), *Gardnerella vaginalis* (24.5%), *Streptococcus agalactiae* (15%) (15). Микробиолошком анализом постељице нађене су *Ureaplasma urealiticum* (47%), *Gardnerella vaginalis* (26%) док је *Escherichia coli* заступљена у око 8% случајева (18,103). Изолована флора је у 65% полимикробна (14). Изоловање вируса из плодове воде је ређе од изоловања бактерија иако је најдоминантнија аденовирусна инфекција постељице у 41% код претремних порођаја и 75% хистолошки доказаних хориоамнионитиса (15,104). Гљивичне инфекције компликују мање од 0.8% случајева трудноћа (105).

Концепт “TRIPLE I”. Хориоамнионитис у етиолошком смислу представља хетерогени ентитет. Више америчких здравствених удружења дало је предлог да се термин хориоамнионитиса замени појмом “triple I” – инфекција, инфламација и обоје (8,12). Иако се овај појам може употребити код клиничког инфективног хориоамнионитиса, а потврдити бактериолошким испитивањима, ипак је резервисан за хистолошку форму хориоамнионитиса (8,12).

Обухвата сублимацију два најважнија патофизиолошка процеса. Инфекцију – која се налази у значајном проценту хориоамнионитиса, и последичну инфламацију (асептичну или покренути микробиолошком инвазијом). Такође се односи и на ова два термина изоловано. Инфекција (доказане микробиолошке агенсе, њихове партикуле или ДНК) постеличног ткива, плозових овојака, плодове воде и пупчаника, а без пратеће инфламације, није реткост у основи хориоамнионитиса (9).

Детектована је и инфламација асептичног порекла, без доказаних микроорганизама (27). Тумачи се у смислу клиничких испољавања хориоамнионитиса, а потврђује микробиолошким, хистопатолошким и лабораторијским анализама (10,106,107). Међутим, претрагом Кохранове базе података, закључује се да је квалитет доказа који говори у прилог широј примени концепта “triple I” лош (8,108).

1.1.4. Клинички хориоамнионитис

Преваленција клиничког хориоамнионитиса се креће од 5-12% трудноћа у термину и 20% трудноћа код којих је дошло до PPRM-а (14,29,109). Микроорганизми у плодовој води присутни су у 61% пацијената са клиничким хориоамнионитисом у термину, али се дијагноза ретко потврђује микробиолошким испитивањима (29,110). Ипак у око 24% случајева клиничког хориоамнионитиса нису нађени микроорганизми упркос интраамнионској инфламацији (29). Преклапање клиничког и хистолошког хориоамнионитиса је нађено у 51-62% случајева (111).

Клинички хориоамнионитис представља ентитет који се одликује:

- повишеном телесном температуром мајке (>37.8⁰C);
- тахикардијом мајке (>100 откуцаја у минути);
- тахикардијом фетуса (>160 откуцаја у минути);
- леукоцитозом у крви мајке (>15000 леукоцита/мм³);
- повећаном осетљивошћу материце;
- непријатним мирисом амнионске течности (12,112).

Хипертермија мајке постоји скоро увек код клиничких хориоамнионитиса (95-100%) и најважнији је клинички знак. Међутим она је тачан показатељ доказане

инфекције у микробиолошком облику у свега 30% случајева (113,114). То доказује да није свака хипертермија заразне етиологије, али ипак на основу повишене температуре, акушер може започети лечење антибиотцима (113).

Разлог повишене температуре у току порођаја може бити последица примењене епидуралне анестезије. У тим околностима долази до пораста вагиналне температуре брзином од 1°C на сваких 7h (113,115). Тачан механизам деловања епидуралне анестезије на хипертермију није познат, али се претпоставља да се врши симпатичка блокада терморегулационих процеса, попут знојења (14). Ипак, не постоји поуздан начин разликовања хипертермије инфективне етиологије и хипертермије изазване физиолошким процесима условљеним применом епидуралне анестезије (113,116).

Тахикардија мајке (присутна у 91.1% хориоамнионитиса) не мора увек бити патолошки показатељ (117). Може бити последица значајнијих хемодинамских потреба мајке, због повећања ударног и минутног волумена срца (113,118). Такође, примена медикамената (симпатикомиметика), као и психосоматски стимулуси који активирају симпатикус могу бити разлог тахикардије мајке.

Тахикардија плода се јавља са учесталошћу од 66% хориоамнионитиса (113,117). Последица је повећаног феталног метаболизма у условима хипертермије мајке, док се изоловано јавља и код феталне хипоксије услед компензаторне стимулације симпатичког нервног система (113,119). Њена дијагностичка тачност је половична јер није увек одраз (што доказују претходни наводи) инфективне етиологије.

Леукоцитизом се сматра број леукоцита у крви мајке >15000 леукоцита/ mm^3 и неспецифичан је биохемијски показатељ. Може се верификовати у току порођаја, без доказа о присутној инфекцији. Јавља се у 33% случајева клиничких и хистолошки доказаних хориоамнионитиса (113,117). Тита и аутори информишу о већој учесталости леукоцитозе у клиничком хориоамнионитису (70-90%), али их дефинишу са >12000 леукоцита/ mm^3 (14).

Повећана осетљивост материце се јавља у 9% хориоамнионитиса, али је у 48.9% тачна у предвиђању клиничког хориоамнионитиса (113,117). Разлог за то су простагландини који се ослобађају у току лучења бактеријских егзотоксина и ендотоксина, а који повећавају контрактилност материце (113,120). Такође, смањена перфузија материце и следствена хипоксија мишића могу узроковати повећану осетљивост материце. Иницијацију осетљивости материце може покренути и крварење у децидуи (113,120).

Непријатним мирисом амнионске течности се хориоамнионитис одликује у свега 3% случајева, са дијагностичком тачношћу од 46.3%. Најчешће је повезан са интраамнионском инфекцијом бактеријама (113,120).

Знаци и симптоми клиничког хориоамнионитиса имају ниску сензитивност и специфичност, лошу предикцију, нису поуздани и обично се јављају касно. Могу бити одсутни, упркос доказаној хистолошком потврдом хориоамнионитиса, али и присутни у случајевима хистолошки непотврђеног хориоамнионитиса. Ипак, представљају емпиријски орјентир за дилему о примени терапије у току трудноће.

1.1.5. Биохемијски хориоамнионитис

Ова форма хориоамнионитиса је најконтроверзнија и најдискутабилнија. Претрагом литературе нећемо наћи пуно података о овом ентитету. Тешко ћемо чак и

дефинисати овај појам. Једноставније је навести да се биохемијски хориоамнионитис налази са више или мање удела у свим претходно наведеним формама.

Комплексни биохемијски процеси представљају основне споне у свим патофизиолошким процесима, као механизмима настанка хориоамнионитиса. Између осталог, процес апоптозе је један од основних процеса у оштећењу трофобласних ћелија (19,20). Хемотаксија, као основа привлачења инфламаторних ћелија, посредована је такође комплексним биохемијским процесима. IL-8 делује као хемотактични чинилац за неутрофилну инфилтрацију у акутним хориоамнионитисима (4,37). Хемокини CXCL-9, CXCL-10 и CXCL-11 из макрофага, ендотелних ћелија и стромалних ћелија привлаче цитотоксичне CD8+TLу у комплексним имунолошким и патофизиолошким процесима развоја хроничног хориоамнионитиса (19,46).

Одређивање у крви мајке, пупчаника или крви фетуса горе наведених имунолошких компоненти нам може бити од помоћи у бољем разумевању хориоамнионитиса. Биолошка ткива (узорци постеличног ткива, биоптата децидуе или пупчаника) софистицираним биохемијским поступцима је такође веома интересантно и научно засновано. Цервикални брис на фибронектин је вишедеценијски тест у процени ризика претерминског порођаја (9,121-124), потом одређивање пљувачног естрадиола (125,126) или кортикотропни хормони. Стандардни инфламаторни показатељи попут фибриногена, прокалцитонина и CRP-а су изоловано неспецифични, али се тумаче у складу са леукоцитозом (9).

Традиционално одређивање проинфламаторних цитокина као што су фактор некрозе тумора (*tumor necrosis factor - TNF*), интерлеукин 1 (*Interleukin 1 - IL-1*) и интерлеукин 6 (*Intrleukin 6 - IL-6*) у крви или плодовој води, потом антиинфламаторних цитокина: трансформишућег фактора раста (*transforming growth factor - TGF*) и интерлеукина 10 (*Interleukin 10 - IL-10*), хемокина, њихових рецептора и рецепторских агониста је све мање специфично за хориоамнионитисе (9). IL-8 представља за сада најпозданији дијагностички маркер у прехистолошкој дијагнози акутног хориоамнионитиса (113,114). Мада, одређивање концентрације IL-6 у плодовој води користи се за процену опсежности инфламаторног одговора (29). Средња вредност овог цитокина код клиничког, микробиолошки доказаног хориоамнионитиса износи 14 ng/ml (29).

Потребно је спровести истраживања са сврхом детекције специфичног биохемијског маркера, јер досадашњи примењени биомаркери нису дали очекиване резултате (9). Вероватну дијагностичку будућност са већом сензитивношћу и специфичношћу има одређивање ткз. "алармина", маркера оштећења ћелија као нпр. интерлеукина 33 (*Interleukin 33 - IL-33*) (29,127). Оправдање за такво разумевање јесу апоптотски процеси трофобласних ћелија у постелици који настају у току хориоамнионитиса. Испитивања су у току.

1.2. Уопштено о цитокинима

“Цитокин” је појам, кованица грчког порекла (*κυτος* – ћелија и *κινειν* – кретање) која у буквалном преводу представља медијатор који се “креће међу ћелијама” (128). Иако се дуго зна за постојање ових супстанци (још од 1970. године), још увек нема њихове прецизне дефиниције која обухвата порекло, молекуларну структуру и коначну улогу. Најчешћа дефиниција гласи да су “citoкени регулаторни протеини које производе леукоцити, али и бројне друге ћелије” (128,129). Ово објашњење је непотпуно, јер изоставља основне улоге цитокина. Цитокини су нешто прецизније дефинисани додатком везаним управо за њихове функције: “то су медијатори које луче различите ћелије и који могу да изазову различите функције у другим ћелијама” (128,130). Са биолошке тачке гледишта, цитокини су веома слични хормонима, јер настају тек након стимулације ћелија и имају многобројне улоге у циљним ћелијама (128).

Њихова функција је плеiotропна односно вишеструка. Луче се и у физиолошким и у патолошким стањима, а могу се различито понашати у зависности од околности њихове продукције (128). За њихову продукцију неопходан је одређени стимулус (нпр. микроорганизам, механички чинилац, токсин...). Своју активност испољавају локално: аутокринно, паракринно и јукстакринно. Аутокрини ефекат се односи утицајем цитокина на ћелије које га стварају или ћелије истог типа (131,132). Паракрини ефекат цитокини испољавају на друге типове ћелија у односу на иницијалне, док се о јукстакрином ефекту говори у случају деловања на суседне ћелије различитог типа (131,132). Цитокини утичу на регулацију инфламаторног одговора повећањем или смањењем продукције других цитокина (133,134).

У људском организму истовремено је присутно више различитих (како по функцији, тако и по структури) цитокина, па је често немогуће изоловати индивидуалне, већ само збирне ефекте истих. Стога је једна од најчешћих подела цитокина на проинфламаторне и антиинфламаторне. Улога цитокина се најчешће везује за инфламаторне процесе. Међутим, цитокини имају улогу и у имунолошкој одбрани организма, онтогенези и њеној регулацији, одржавању хомеостазе организма, хематопоези, контрактилности мишића, имплантацији, трудноћи и порођају, али и у програмираној ћелијској смрти – апоптози, репарацији ткива и многим болестима (128).

Нема прецизне класификације цитокина, јер их разноврсност критеријума прилично ограничава. Има знатних преклапања, међусобних допуњавања, разлика у биолошким процесима, а сличности у молекуларној структури и обратно. Тако да се у науци најчешће користи функционална и структурна класификација цитокина (128).

Функционална класификација изведена је из њихових биолошких својстава, и то је прва класификација цитокина која датира из 80-их година прошлог века (129). На основу описа функције разликујемо:

- интерфероне (*Interferon - INF*);
- интерлеукине (*Interleukin - IL*);
- факторе некрозе тумора (*Tumor necrosis factor - TNF*);
- факторе стимулације колонија (*Colony-stimulating factors - CSF*);
- факторе раста (*Growth factor – GF*);
- трансформишуће факторе раста (*Transforming growth factor – TGF*);
- хемокине (*C-X-C motif chemokine ligand - CXCL*);
- вирокине (128).

Предности ове класификације огледале су се у томе што се из имена цитокина могло закључити о њиховим улогама. Међутим, касније се показало да осим својих основних, већина цитокина има и споредне улоге које се преклапају са другим цитокинима. До сада није дефинисана прецизна подела, тако да је претходно наведена класификација, иако са приличним непрецизностима, још увек актуелна.

Функције цитокина одређене су интеракцијом са одговарајућим рецептором, и следственим активирањем сигналног пута те последичном активацијом гена (135). Рецептори за цитокине су протеинског порекла, високо афинитетни и садрже екстрацелуларни, трансмембрански и интрацелуларни домен. Подељени су у четири групе (I-IV), па је једна од алтернативних **класификација** цитокина, а која се преплиће са њиховом функционалном класификацијом, она **према одговарајућем рецептору**.

Структурна класификација цитокина спроведена је на основу молекуларне структуре. Последње две деценије уложен је приличан напор, али веома продуктиван, у утврђивању тродимензионалне структуре многих цитокина (128). Хомологија је присутна у <30% структура цитокина, што оправдава поделу на 4 групе:

- α спирални цитокини;
- цитокини β листа;
- цитокини са кратким α/β листом;
- цитокини мозаичне структуре (128).

1.2.1. Интерлеукин 33 (IL-33)

IL-33 идентификован је 2005. године од стране Schmitz-а и сарадника (136-138). У почетку није назван садашњим именом, већ је имао назив нуклеарни фактор високе ендотелне венуле (*Nuclear factor from high endothelial venules - NF-HEV*), на основу изоловања из ендотелних ћелија крвних судова (139-141). Детаљном анализом његове молекуларне структуре утврђена је хомологија С-терминалног дела овог чиниоца и до тада познатих чланова породице IL-1 (142). Овај домен је заправо организован идентично као исти домен цитокина породице IL-1, у 12 β ланаца одговорних за цитокинску активност, што га са правом категорише не као изолованог цитокина, већ цитокина породице IL-1 (143,144). 2006. године је NF-HEV добио назив IL-33 (141,145).

Осим С-терминалног дела (кога чине аминокиселине 112-270), одговорног за цитокинску активност породице IL-1, IL-33 поседује и њему специфичан N-терминални део (аминокиселине 1-78) са активношћу везивања за хроматин једра (145). Ова два домена цитокина су еволуционо стабилни са >50% хомологије између човека и миша, што олакшава испитивање овог недовољно познатог интерлеукина на анималним моделима (139). Централни домен IL-33 (аминокиселине 79-111) је најосетљивији и представља циљно место деловања ензима или токсина који разбијају ову протеинску структуру (146-148).

Осим доказа о хомологији С-терминалног домена IL-33 са осталима из породице IL-1, да се ради о члану ове породице, а не посебном интерлеукину, доказује нам и чињеница да се везују за исте рецепторе који садржи *toll* домен (149-151). Дуго се мислило и да је исти механизам који ствара биоактивне чланове породице IL-1 (рачунајући и IL-33), протеолитичком обрадом прекурсора (152). Међутим, разлика је у томе што се сви гени који кодирају чланове породице IL-1 налазе на хуманом хромозому 2, осим гена за IL-33 који се налази на хромозому 9 (и гена за интерлеукин 18 (*Interleukin 18 - IL-18*) – такође члана породице IL-1, на хромозому 11) (149). Ген хромозома број 9

који кодира IL-33 налази се на кратком краку хромозома - 9p24.1, на осам егзона који се простиру на више од 20 килобаза геномске ДНК (141,153).

У дидактичком смислу IL-33 постоји у две форме: унутарћелијска форма и ванћелијска форма. Унутарћелијски IL-33 се везује својим N-терминалним доменом за хетерохроматин (нуклеозомски кисели део у хистонским H₂A-H₂B димерима хетерохроматина), модулира његову структуру и регулише експресију гена (154,155). Због ефеката које испољава у хетерохроматину, назива се и једарним (нуклеарним) IL-33. У погледу своје унутарћелијске функције, IL-33 је идентичан IL-1 α , што је још један доказ припадања истој породици интерлеукина (156).

У случају оштећења ћелија, односно ћелијске апоптозе, IL-33 се пасивно ослобађа из једра у ванћелијски простор. Као такав назива се “алармин” – сигнални цитокин ћелијског оштећења (149,157). Његова улога као таквог је да упозори имунски систем на оштећење ћелија, а први експериментални докази који потврђују ову улогу су презентовани 2009. године (158,159). Међутим, испитивања су показала да ослобађање IL-33 није увек повезано са ћелијском смрти – апоптозом, већ да постоје и одређени механизми активне секреције попут оксидативног стреса, активације ћелија аденозин трифосфат-ом (*Adenosine triphosphate* - *ATP*) или рецепторима активираним протеазама (160). Ипак, као компромис, утврђено је да ћелијски стрес индукује низак ниво ослобађања IL-33, а да се у знатној количини IL-33 ослобађа само приликом ћелијске смрти или опсежног оштећења (141).

Поједини аутори су покушавали да докажу и цитоплазматску експресију IL-33 (159). То би у знатној мери оповргло досадашња сазнања о нуклеарном и ванћелијском IL-33. Цитоплазматско бојење IL-33 треба узети са опрезом и посматрати га у форми артефакта (161). За сада је јасно да IL-33 у нуклеарној (унутарћелијској) форми делује као нуклеарни фактор који регулише транскрипцију, а у ванћелијској форми као типичан цитокин (145). Недавно се посумњало да ванћелијски IL-33, а не унутарћелијски IL-33 регулише експресију протеина у хуманим ендотелним ћелијама (162).

Дуго се мислило да по ослобађању IL-33 мора деловати каспаза-1, ензим који би га претворио у биоактивни облик (што је случај са IL-1 β) (163-166). Ипак накнадна испитивања одбацила су овај механизам, али су открила активност каспазе-3 и каспазе-7 са улогом цепања IL-33 у биолошки неактивне фрагменте (164-166). Нема подата о полуживоту како унутарћелијског, тако ни ванћелијског IL-33.

Као што је већ наведено хумани IL-33 се производи и у физиолошким и у патолошким условима. Најдоминантнија експресија је у ендотелу крвних судова и епителним ћелијама које су изложене спољашњим факторима или патогенима (158). То су ћелије слузнице усне дупље, трахеобронхијалног стабла, желуца и црева, вагине... Стога се често назива и епителним цитокином (138). Знатно се ствара и у фибробластима секундарних лимфних органа и мезенхималним ћелијама.

Исте ћелије, али и друге ћелије (кератиноцити коже, миофибробласти јетре, панкреаса, бубрега, ћелије хаметопоезног система) га могу продуковати у патолошким условима (138,139,153). Инфламаторни процеси са или без присуства микроорганизама, туморски процеси малигног порекла или фиброзне организације ткива само су неки од патолошких стања која иницирају експресију IL-33. Утврђена је повећана производња овог цитокина у Алцхајмеровој болести, кардиоваскуларним обољењима, мишићно-скелетним, а посебно дегенеративним процесима. Посебно је занимљиво тумачити улогу IL-33 код гојазности (138).

Своје ефекте IL-33 испољава везивањем за одговарајући рецептор означен као тумор супресорски 2 (*Suppression of tumorigenicity 2 - ST2*) рецептор (153). Овај рецептор припада породици IL-1 рецептора (167,168) и кодиран је геном на хромозому 2 (138,169-171). Постоје две форме овог рецептора: трансмембранска форма пуне дужине која се састоји од трансмембранског, унутарћелијског и ванћелијског домена - ST2L и ванћелијска, кратка форма која је растворљива - sST2 (138,172).

ST2L рецептор први пут је идентификован у фибробластима (149). Касније је откривено његово присуство на површини многобројних ћелија имунског система: мастоцита, базофила, макрофага, регулаторних Т лимфоцита, а који брзо одговарају на стимулацију IL-33 (139,141,174). Селективно се приказује у хуманим Th2 (*T helper*) лимфоцитима, али не и у хуманим Th1 лимфоцитима (174), док је доказан у неким анималним моделима у Th1 лимфоцитима (175). Након интеракције IL-33 и ST2L долази до покретања сигналних механизма: протеина 88 примарног одговора мијелоидне диференцијације (*Myeloid differentiation primary response 88 - MyD88*), киназе повезане са рецептором за интерлеукин 1 (*Interleukin-1 receptor (IL-1R) associated kinase - IRAK1*) и фактора 6 придруженог рецептору TNF (*Tumor necrosis factor receptor associated factor 6 - TRAF6*), што доводи до покретања протеин киназе активираних митогеном (*Mitogen-activated protein kinase – MAPK*) и нуклеарног фактора κВ (*Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells – NFκB*) (142,153).

sST2 рецептор је константно присутан у хуманом серуму где служи као мамац за IL-33 (138). Сматра се прогностичким маркером јер неутралише дејство IL-33 у многобројним инфламаторним процесима, кардиоваскуларним, реуматолошким и алергијским стањима (176-178). Интеракције IL-33 са sST2 рецептором доводи до локалне производње проинфламаторних цитокина, ћелија природних убица (*Natural killer cells – NK*), али и повећању броја рецептора за исте (149,179). Ипак, у оваквим околностима, није увек доминантан Th2 имунски одговор, јер у кожи и перитонеалној шупљини, IL-33 привлачи неутрофиле уместо еозинофила, вероватно стимулацијом ослобађања TNFα од стране мастоцита (180-182).

Неопходан је за правилну ефекторску функцију CD8+TLу и NK ћелија (183-185). Делује као хемотактични фактор за неутрофиле (186), а повећава и њихову фагоцитну активност (187,188).

Улога IL-33 је двојака. Иако је окарактерисан као проинфламаторни цитокин, он може и да ублажи инфламаторне процесе, а у зависности од окружења (189). Равнотежа између ефеката Th1 и Th2 имунског одговора, опредељује IL-33 као заштитног или патолошког чиниоца у контексту болести (183,190).

Предоминантна улога му је у Th2 имунском одговору, али његови плеиотропни ефекти указују и на допринос овог цитокина у Th1 имунском одговору и појачаној секрецији других цитокина и њихових рецептора у оба инфламаторна процеса (191). Стимулацију доминације његовог про/антиинфламаторног ефекта у инфламаторним процесима још увек треба истражити са сврхом потенцијаног терапијског деловања IL-33 у многим патолошким стањима. Пример тога је блокада ST2 рецептора која може побољшати антитуморски имунитет и стимулирати активност NK ћелија (167).

1.2.1.1. Улога IL-33 у трудноћи и порођају

Постељица (placenta, грчки *πλακοῦς* – равно, *πλάζ* - плоча) представља привремени орган у трудноћи који има вишеструке улоге. Разумевање развоја постељице је од битног

значаја за тумачење комплексних збивања у физиолошким и патолошким трудноћама. Њено порекло је двоструко, настаје и од матерналних и од ембрионалних структура.

Хомеостатска равнотежа у комплексној цитокинској мрежи у току развоја постелице је од битног значаја у очувању трудноће (192). IL-33 је претежно локализован у ендотелним ћелијама и глатким мишићима крвних судова у хорионској плочи, плацентним (хорионским) ресицама и базалној плочи (136). Детектују се такође и у једрима ендотелних и глаткомишићних ћелијама крвних судова пупчане врпце, али и у 15% једара стромалних ћелија Вартонове пихтије (136).

IL-33 произведен из макрофага представља веома битан чинилац у расту и развоју постелице у првом триместру трудноће (192). Макрофаги могу бити плацентни (ембрионалног порекла) и децидуални (мајчиног порекла). Плацентни макрофаги (названи још и Хофбауерове ћелије) продукују IL-33 као главног регулатора функције трофобласта (193,194). Осим плацентних макрофага и децидуални макрофаги продукују IL-33, те заједно регулишу ћелијски циклус вилозног цитотрофобласта и будућих интерстицијалних цитотрофобласних ћелија (192).

Занимљиво је да је студија Fock-а и сарадника показала активно лучење IL-33 из плацентних и децидуалних макрофага, те да њихова експресија није повезана са ћелијским оштећењем (192). Ипак, оштећење изазвано нпр. вирусном инфекцијом у трудноћи (184) може бити разлог пасивног ослобађања IL-33. Такође, запажена је и цитоплазматска експресија IL-33 у плацентним и децидуалним макрофагима (146), али ова нетипична локализација захтева даље испитивање услова и околности у којима су детектовани.

Обзиром да плацентне ресице садрже у трећем триместру трудноће мању количину макрофага, долазимо до објашњења слабије детекције (или потпуног недостатка) IL-33 у супернатантима серума код трудница (136). Постоји мишљење да се IL-33 лучи у трећем триместру трудноће, али да се везује за своје ST2L рецепторе у вилозном цитотрофобласту (195). Неки аутори тврде да је експресија IL-33 у трећем триместру трудноће у плаценти резервисана само за нуклеарне облике овог цитокина, пореклом из ендотелних ћелија. Ипак, чини се да смањена експресија IL-33 из плацентних макрофага не важи и за децидуалне макрофаге који до порођаја експримирају IL-33 (192-195).

На основу досадашњих испитивања, зна се да је IL-33 одговоран за пролиферацију трофобласних ћелија, посебно оних у вилозном цитотрофобласту (који покрива ресице постелице), као и у трофобластима проксималних делова плацентних стубића (192). Непрекидна подела ових ћелија битна је за правилан раст и развој постелице и њихову адекватну функцију. Међутим, још увек се не зна о извору и сигналним путевима којима IL-33 утиче на пролиферацију ових ћелија.

Неоспорна је улога макрофага у развоју постелице (196). Забележена је експресија IL-33 и његовог ST2 рецептора у ћелијама ендометријума, а посебно се повећава у процесу децидуализације стромалних ћелија ендометријума преконцептуално (138,197). Продужена експресија овог цитокина у наведеним ћелијама може довести до побачаја (197). У процесу имплантације експресија IL-33 је аутокринна, док је паракрина експресија IL-33 из макрофага везана за раст и развој постелице. Ипак паракрина стимулација је превасходно везана за леукоците (како плацентне, тако и децидуалне). Децидуални леукоцити су преодминантно NK ћелије (60-70%), док макрофаги чине мањи проценат (20-30%) (198,199).

Испитивања су показала да ендотелне ћелије крвних судова континуирано производе IL-33 у нормалним хуманим ткивима, рачунајући и постељицу (200,201). Осим њих и ћелије глатких мишића крвних судова хориона и пупчаника експримирају IL-33 са посебном улогом у васкуларној биологији (158). У физиолошким условима, ћелије амниона не експримирају IL-33, а поједине студије дају и опречне податке у производњи IL-33 у Хофбауеровим макрофагама у терминској трудноћи (136,202).

Из наведеног закључујемо да би поремећај интеракције IL-33 и његовог рецептора као пута за пролиферацију трофобласта, могао довести до нежељеног исхода трудноће (197). Цитокини, а посебно IL-33 има јако битну улогу у одржавању Th2 имунског одговора који је доминантан у трудноћи. Имуномодулаторни чиниоци су препознати као главни фактори који утичу на функцију трофобласта (193,194). Посебно је важно истаћи улогу IL-33 као првог фактора порекла из макрофага који регулише пролиферацију трофобласта, чиме се потврђује могућа теорија о кључној улози макрофага у развоју постељице (196,203).

У патолошкој трудноћи експресија IL-33 је посебно занимљива. Примећено је да нема разлике у експресији IL-33 у постељци и пупчанику из претерминских порођаја без пратећег хориоамнионитиса у односу на порођаје који су наступили у термину (136). Постоје докази о бојењу IL-33 у синциотиотрофобласту постељица из терминских некомплицованих трудноћа (200). Нека испитивања су ипак оповргла ове наводе, односно синциотиотрофобласт је у више бојења остао негативан на IL-33 и то не само у постељицама терминских порођаја, већ и у постељицама претерминских порођаја (чак и са хориоамнионитисом) (136).

Да би дошло до приказивања IL-33 у (неактивним) макрофагима, неопходна је њихова активација – стимулација или апоптоза, чиме се објашњава појава IL-33 позитивних макрофага у случајевима претерминског порођаја са акутним хориоамнионитисом, у односу на претерминске порођаје без инфламације (136).

У случају претерминског порођаја праћеног акутним хориоамнионитисом експресија IL-33 нађена је у хориоамнионским мембранама и пупчанику, али не и у ткиву постељице. Није типична појава IL-33 у макрофагима постељица из претерминских порођаја без хориоамнионитиса. Ипак у случају акутне инфламације која прати претермински порођај, нађена је нуклеарна експресија IL-33 у макрофагама у преко 40% случајева (136). Шта изазива селективну активацију макрофага и последичну селективну експресију IL-33, за сада још није познато. Исти проценат је нађен и у стромалним ћелијама Вартонове пихтије пупчаника из претерминског порођаја са акутним хориоамнионитисом у односу на онај без инфламације (136). IL-33 се одликује привлачењем неутрофила у жариште инфламације, вероватном стимулацијом ослобађања TNF α од стране мастоцита (204). Неутрофилна инфилтрација ткива је, као што је познато, одлика акутних инфламаторних процеса, па самим тим и акутног хориоамнионитиса.

Код претерминског порођаја који је праћен хроничним хориоамнионитисом показана је нуклеарна експресија IL-33 у васкуларним ендотелним и глаткомишићним ћелијама хориоамнионске мембране, пупчаника и постељичног ткива. Али макрофаги и миофибробласти су, за разлику од акутног хориоамнионитиса, негативни на IL-33 (136). Наведене чињенице у вези са експресијом IL-33 у различитим ћелијама код две форме хориоамнионитиса нам указују на фундаменталне разлике у патофизиолошким збивањима ова два патолошка ентитета (47-49,145). Још увек трају испитивања процене

предиктивних вредности IL-33 и његовог рецептора ST2 у предвиђању хориоамнионитиса код PPRом-а (205).

Полазећи од чињенице да се у прееклампсији инфламаторни одговор налази као основни патофизиолошки процес, испитивана је (мада недовољно), улога IL-33 и његовог рецептора sST2 (200,206). Позната је чињеница да је некомплицована трудноћа повезана са Th2 имунским одговором. Трудноћу компликовану прееклампсијом карактерише преминација Th1 имунског одговора (208).

Утврђено је да нема значајних варијација у циркулацији IL-33 код трудница са нормалном и трудноћом компликованом прееклампсијом. Међутим, имунохистохемијским испитивањима постеличног ткива трудноћа са прееклампсијом запажено је да се IL-33 експримира у ћелијама синциотиотрофобласта и хорионских ресица. Обзиром да није детектован у системској циркулацији, вероватно да је у овим околностима реч о локалном медијатору (200).

За разлику од IL-33, концентрација његовог солубилног рецептора sST2 у циркулацији је била повећана у трећем триместру нормалне трудноће, а изразито повећана у трећем триместру трудноће компликоване прееклампсијом (200). Имунохистохемијска анализа постелице у трећем триместру трудноће, потврдила је ову чињеницу која се односи на повећање sST2 рецептора (208). Детектован је у синциотиотрофобласту, а разлог детекције у крвотоку може бити оксидационо оштећење ћелија постелице у прееклампсији (209).

У некомплицованој трудноћи концентрација sST2 у циркулацији је била у јакој корелацији са гестацијском старошћу трудноће. Најмање је експримиран у првом триместру, а највише у трећем триместру трудноће. То није случај са трудноћама компликованим прееклампсијом, где нема јасне корелације са гестацијском старошћу. Запажено је повећање концентрације sST2 код овог стања, чак и у другом триместру трудноће. У трећем триместру трудноће са прееклампсијом, концентрација sST2 је знатно повећана у циркулацији, у односу на трећи триместар некомплицоване трудноће. Додатно је повећана у случају испољених клиничких симптома (200).

Сумња се да висока концентрација sST2 рецептора у циркулацији трудница са прееклампсијом везује IL-33, чиме се онемогућава његова детекција у системској циркулацији, потенцирајући Th1 имунски одговор доминантан у прееклампсији (200). Повећан sST2 у циркулацији негативно утиче на исход инфламаторног процеса, везујући IL-33 и самим тим смањујући неутрофилну инфилтрацију до места инфламације (186). Све наведено ствара могућност испитивања sST2 као новог маркера за прееклампсију, вероватно сензитивнијег од досада испитаних (210).

IL-33 има веома важну улогу у спречавању претерминског порођаја, стимулацијом експресије прогестероном индукваног молекула блокирања 1 (*Progesterone induced blocking factor 1 - PIBF1*) од стране В лимфоцита из хориодецидуе (211). Иако се дуго сматрало да В лимфоцита нема или су врло ретки у децидуи (212), показало се да они имају кључну улогу у прихватању полуалогених плодова (213), а њихова дисфункција повезана је са ризиком од претерминског порођаја (211).

Хориодецидуални В лимфоцити су различитог фенотипа у односу на циркулишуће, и знатно их је више у претерминским него у терминским порођајима (211). Између осталог, они представљају важан извор PIBF1, посебно у касној трудноћи, експримираног перинуклеарно и у цитоплазми (214). PIBF1 обавља многе ефекторске

улоге прогестерона у трудноћи, а његова смањена концентрација у серуму је показатељ ризика од претерминског порођаја (215).

Експресију PIBF1 контролише IL-33. Испитивања у анималним моделима на мишевима су показала да је IL-33 много ефективнији на експресију PIBF1 у односу на прогестерон. Концентрација PIBF1 у хориодециду мишева се није смањила у касној трудноћи упркос смањењу концентрације прогестерона, већ је ту експресију одржавао управо IL-33 (211). Такође, ова испитивања су показала да се код мишева детектују две субпопулације В лимфоцита: В₁ субпопулација која експримира ST2L и В₂ субпопулација која га не експримира (180,216).

У анималним моделима на мишевима добро је позната смена Th1 и Th2 имунског одговора у одржавању трудноће, али и у порођају. Након кратког Th1 имплантационог имунског одговора, долази до конверзије у доминантан Th2 имунски одговор који доминира до краја трудноће, након чега настаје поново Th1 имунски одговор одговоран за порођај (216). У одржавању Th2 антиинфламаторног имунског одговора током трудноће пресудну улогу има осовина IL-33/ST2L експримирана на површини В лимфоцита који су тада у експанзији. Пред порођај, променом имунског одговора, смањује се број В лимфоцита (субпопулације В₁ лимфоцита) који експримирају ST2L (216,217).

Испитивало се да ли је спрега IL-33 - В лимфоцити - PIBF1 у вези са претерминским порођајем, актуелна и у хуманим моделима? Утврђена је нижа експресија ST2L рецептора В лимфоцита у хуманој хориодециду, као и нижа експресија PIBF1 у хориодециду и њеним В лимфоцитима у претерминском него у терминском порођају. Ниска експресија PIBF1 није последица ниских вредности прогестерона, јер су у оба случаја концентрације прогестерона сличне. Такође, примена прогестерона није повећала концентрацију ST2L и PIBF1 на култивисаним хориодецидуалним В лимфоцитима. Ова чињеница потврђује неоспоран ефекат IL-33, јер дефект у његовој реактивности доводи до настанка претерминског порођаја, а што може бити од значаја у даљој терапијској стратегији (211,216).

Интеракција IL-33 и ST2L рецептора стимулише Th2 имунски одговор (142,169). Ову интеракцију може прекинути sST2, који неутралише стимулативне ефекте IL-33 везујући га за себе (207). На тај начин испољава супресивну улогу Th2 имунском одговору, модулацијом експресије *toll like* рецептора (218,219). Концентрације sST2 у плодовој води трудница са претерминским порођајем и интраамнионском инфекцијом су ниже у односу на концентрације у плодовој води трудница са претерминским порођајем без интраамнионске инфекције. Међутим, то није случај са концентрацијом sST2 у периферној крви труднице која је повећана. Ове разлике су последица различитих хомеостатских механизма у плодовој води и циркулацији (169,220).

Такође, експресија ST2 информационе рибонуклеинске киселине - иРНК (*Messenger ribonucleic acid - mRNA*) у хориоамнионским мембранама из претерминских порођаја компликованих акутним хориоамнионитисом је смањена. Акутна инфламаторна реакција хориоамниона је у највећем проценту случајева последица интраамнионске инфекције, што је већ позната чињеница (169,221). Концентрација sST2 у плодовој води претерминских порођаја без интраамнионске инфекције није се разликовала од концентрације sST2 из плодове воде терминских порођаја. Тиме се потврђује да промена концентрације sST2 у плодовој води зависи од присуства инфекције (и инфламације), а не од термина порођаја (169).

Прекомерна телесна тежина (гојазност) труднице није мали проблем. Она доприноси повећаном ризику за развој кардиоваскуларних и метаболичких поремећаја труднице. Трудноћа сама по себи представља продијабетогено стање, посебно онда када је стимулише гојазност. У масном ткиву, главни извор IL-33 јесу ендотелне ћелије (183,222). Међутим, у гојазности се утврђује преминација проинфламаторног Th1 имунски одговор у односу на антиинфламаторни Th2 имунски одговор (223-225). Ово стање доприноси метаболичким поремећајима који могу резултирати слабљењем толеранције на глукозу, инсулинском резистенцијом и дијабетесом (226,227).

Повећана експресија IL-33 у проинфламаторном контексту гојазности је парадоксална. Примећен је пораст sST2 код гојазних трудница (222), који везивањем IL-33 супримира његове антиинфламаторне ефекте, упркос повећаној експресији. Такође, постоји и друго објашњење које се односи на деловање ензима каспаза 3, а која је доказана експериментима на мишевима. Њена активност је код гојазних мишева повећана, те инактивира IL-33 што онемогућава одржавање Th2 имунског профила (183,228).

Позната је чињеница да IL-33 као хемотактични чинилац повлачи неутрофиле у масно ткиво. Неутрофили продукују ензим неутрофилну еластазу која је битна у развоју локалног инфламаторног процеса (229). Међутим, она такође делује и на IL-33 који сада постаје биолошки активнији (146). И у оваквим околностима се успоставља парадоксална ситуација јер је неутрофилна еластаза штетна у контексту гојазности, али ефективна у погледу измене активности IL-33.

Упркос овом неповољном окружењу, терапијска примена IL-33 може утицати (бар делимично) на интензитет инфламаторног процеса и развоја метаболичких поремећаја насталих код гојазних трудница (183). На тај начин би се евентуално могла смањити инциденција гестациског дијабетеса, али и других метаболичких поремећаја, што је још једна од могућих потенцијалних терапијских примена не само IL-33.

1.2.2. Интерлеукин 1 (IL-1)

Историјска, али данас свакако слабо актуелна, подела интерлеукина заснивала се на пореклу, тј. врсти ћелија које их производе. Превасходно се односила на лимфокине (порекла лимфоцита) и монокине (порекла моноцита) (128). Један од првих откривених монокина био је интерлеукин 1 – IL-1, често називан и фактор активације лимфоцита (*Lymphocyte activating factor - LAF*) (230). Крајем 1970. године назван је данашњим именом (интерлеукин 1) и заједно са интерлеукином 2 (*Interleukin 2 – IL-2*), категорисан је као први цитокин који има способност стимулације лимфоцита (231).

По структурној организацији припада категорији цитокина са β листовима који имају тзв. β тролисну структуру. Састоје се од 12 β ланаца и немају водећи низ који је одговоран за секрецију протеина (128). Своје ефекте остварују везујући се за рецепторе класе IV, при чему разликујемо најмање две поткатогеорије ових рецептора: IL-1-RI и IL-1-RII. Касније је утврђено да, некада категорисани, молекули повезани са рецепторима за IL-1 и сами имају рецепторску улогу (IL-1-RAcP или IL-1-Rgp), за поједине цитокине породице IL-1 (нпр. IL-18) (232,233). Два су главна сигнална пута која се покрећу у току интеракције IL-1 и њему одговарајућег рецептора – IRAK и MAP киназом (234).

Основна карактеристика IL-1 заснива се на његовој плеиотропији тј. разноликости његових функција. Отуда и дуготрајна енигма око његовог правога назива, а на основу функције коју обавља (ендогени пироген, фактор који активира лимфоците, ендогени

медијатор леукоцита...) (235,236). Међутим, најважнија улога IL-1 је описана кроз имунолошки систем - један је од најважнијих имунолошких медијатора, али и стимулатора у производњи других цитокина (133,134).

За IL-1 као преобладајућег проинфламаторног цитокина, карактеристично је да стимулише не само Th1, већ и Th2 лимфоците. На тај начин започиње и хуморални и целуларни имунски одговор (237,238).

Иако је најважнија улога IL-1 везана за имунски одговор, а пре свега у регулацији акутне инфламације (237,239,240), битне функције остварује и при процесима ремоделирања костију, регулацији секреције неких ендокриних жлезда (инсулина из панкреаса), регулацији апетита, процесима хематопоезе (241)... Познате су и његове улоге у овулацији, нидацији и ангиогенези, али и у контроли трофобластичке инвазије (242). Протеktivно делује код интоксикације и радијације.

Породицу IL-1 чини 11 интерлеукина (IL-1 α , IL-1 β , IL-1Ra, IL-18, IL-36Ra, IL-36 α , IL-37, IL-38 β , IL-38 γ , IL-38 и IL-33) (243). Гени који кодирају цитокине из породице интерлеукина 1 се углавном налазе на q краку хромозома број 2, осим за IL-18 (хромозом 11q) и IL-33 (хромозом 9p) (141,149,153). Ипак из ове хетерогене про/антиинфламаторне породице цитокина, највише је испитивана улога IL-1 α и IL-1 β .

IL-1 α представља проинфламаторни цитокин који је по својим биолошким карактеристикама сличан IL-33. Има улогу у процесу транскрипције (као транскрипциони фактор), али делује и као класичан цитокин, са ванћелијским проинфламаторним ефектом (244). Синтезише се *de novo* у макрофагима и моноцитима и углавном депонује у гранулама цитоплазме. У имунолошком одговору има улогу да стимулише секрецију IL-1 β , а сам IL-1 α се продукује како у инфламацији инфективног порекла, тако и у "стерилним" инфламацијама (245).

IL-1 β се ослобађа тек након стимулације макрофага или дендритских ћелија инфективним агенсом (најчешће липополисахаридима бактерија - LPS). Ефекти се остварују везивањем патогених стимулуса (LPS) за *toll like* (TLR4) рецепторе и следствене обраде IL-1 β у активну форму под утицајем каспазе 1 (246). Гени за синтезу оба наведена цитокина налазе се на дугом краку хромозома 2, у региону 2q14 (170).

1.2.2.1. Улога IL-1 у трудноћи и порођају

Основна имунска карактеристика физиолошке трудноће јесте преминација Th2 имунског одговора, те последична супресија Th1 имунског одговора. Ову тврдњу поткрепљују чињенице да у току трудноће болести посредоване Th1 имунским одговором улазе у ремисију, а болести посредоване Th2 имунским одговором у егзацербацију. Сматра се да кључну улогу у току трудноће има прогестерон, као индуктор Th2 имунског одговора, познат и као протеktivни гестацијски чинилац (237).

IL-1 *de facto* представља проинфламаторни цитокин, али његова улога у физиолошкој трудноћи није негативна. Разлог томе је вероватна, хормонски контролисана равнотежа проинфламаторних и антиинфламаторних ефеката цитокина, односно Th1 и Th2 имунског одговора, јер овај цитокин паралелно, али балансирано, стимулише и Th1 и Th2 лимфоците (237,238).

Преконцепцијски ефекти IL-1 огледају се у процесима овулације, када се запажа благ скок вредности овог цитокина, што оправдава чињеницу могуће инфламаторне позадине овулације. Неоспорна је његова улога и у матурацији фоликула (247). Познат

као пирогени агенс, могући је узрок повећане вагиналне температуре, али и температуре тела током овулације.

Бластоциста има улогу у лучењу ИЛ-1, што показује битну улогу овог цитокина у концепцијском периоду (248). Највероватнији механизам ИЛ-1 у процесу нидације заснива се на простагландинским механизмима који иницирају жаришну инфламацију на месту усађивања оплођене јајне ћелије у децидуално измењени ендометријум (237,242). Индиректно, у корелацији са прогестероним, учествује и у децидуализацији ендометријума, као припреми за нидацију.

По усађивању бластоцисте у децидуални ендометријум, ИЛ-1 доводи до продукције васкуларног ендотелног фактора раста (*Vascular endothelial growth factor - VEGF*) те последичне ангиогенезе, битне за исхрану и даљи раст концептуса (237,242). ИЛ-1 има битну улогу у контроли инвазије трофобласта под утицајем фактора инхибиције леукемије (*Leukemia inhibitory factor - LIF*) продукованог од стране НК ћелија. Овај чинилац олакшава инвазију трофобласта ка децидуи стимулацијом продукције децидуалних ензима, посебно желатиназа (242).

У првом триместру трудноће имунохистохемијске анализе постелице показују детектабилност ИЛ-1 β , која је потврђена полимеразном ланчаном реакцијом (*Polymerase chain reaction - PCR*) анализом и следственом детекцијом иРНК ИЛ-1 β (249,250). ИЛ-1 β у раној трудноћи продукт је децидуалних ћелија и плодових овојака у физиолошкој трудноћи (249).

Анализа амнионске течности узорковане амниоцентезом у другом и трећем триместру трудноће, у одсуству детектабилне инфекције, показала је присуство ИЛ-1 у трећем триместру и одсуство у другом триместру трудноће (251). Закључујемо да је ИЛ-1 у физиолошким условима у трећем триместру и непосредно пред порођај присутан у плодовој води. Његова улога у овим околностима је повећана синтеза сурфактанта и убрзана фетална матурација плућа (237,252).

Даља детаљна анализа амнионске течности показује слабију до никакву детекцију ИЛ-1 у течној компоненти центрифугата, док је талог сачињен од ћелија, низом експерименталних процедура, доказан за извор детектабилне концентрације ИЛ-1. Ту се пре свега издвајају десквамирани каратиноцити (ћелије коже) феталног порекла, којих готово да нема у другом триместру трудноће, за разлику од трећег триместра. Међутим, не може се оспорити ни учешће ћелија гастроинтестиналног, урогениталног тракта и трахеобронијалног стабла фетуса. Дефинитивно, продукција ИЛ-1 у амнионској течности везана је за ћелије феталног порекла (251).

ИЛ-1 α је доминантан облик ИЛ-1 који се лучи од стране макрофага у плодову воду физиолошке трудноће трећег триместра. Постоје теорије конверзије излученог ИЛ-1 β у ИЛ-1 α , али и позната чињеница повећане продукције ИЛ-1 α од стране кератиноцита (251). Концентрација ИЛ-1 у амнионској течности терминске трудноће је већа од концентрације ИЛ-1 у амнионској течности трудноћа пре 37. недеље гестације. Међутим, детектују се и нешто веће концентрације ИЛ-1 непосредно пред и у току започетог порођаја у термину (237,249,251).

Децидуа представља значајан извор продукције ИЛ-1 (251,253). ИЛ-1 стимулише производњу простагладина из амниона, али и из децидуе. То је један од могућих механизма повезивања ИЛ-1 и порођаја у термину (251,254). Други могући механизам везан је за настанак асептичне инфламације, одвајања хориоамнионских мембрана од децидуе и повећане децидуалне производње ИЛ-1, који даље истим физиолошким

процесом (стимулацијом продукције простагландина) покреће физиолошки порођај (101,251). У сваком случају пораст концентрације IL-1 представља сигнал за почетак порођаја.

Познато је да IL-1 заједно са TNF α стимулише биосинтезу простагландина из арахидноске киселине, пре свега простагландина E2 (*Prostaglandin E2 - PGE2*) са/без простагландина F2 α (*Prostaglandin F2 α - PGF2 α*) од стране ћелија хуманог хориона, амниона и децидуалних ћелија, а кроз повећање циклооксигеназне активности (*Cyclooxygenase 2 - COX2*) (249,255). Познато је да ова два простагландина доводе до сазревања грлића и контракције материце које претходе порођају (256). IL-1 β мења активност цитосолне фосфолипазе A2, али и умањује дејство 15-хидроксипростагландин дехидрогеназе унутар плодових овојака, као кључног ензима у разградњи простагландина (249,257). Такође, повећава експресију рецептора за PGE2, те потенцира његово деловање, али и његову производњу од стране амниона (258).

Термински порођај који није праћен инфекцијом, одликује се повећањем IL-1 β (експресије иРНК IL-1 β) у постелици и децидуи (259), порастом концентрације IL-1 β у плодовој води (260), али и у цервиковагиналном секрету (261). Детекција IL-1 β у амнионској течности током терминског порођаја без присуства доказане интраамнионске инфекције, поседица је вероватно оштећења ткива (нпр.одвајања плодових овојака). Не може се одбацити ни могућност инфламације, као узрока продукције IL-1 β , јер је у основи порођај посредован инфламаторном реакцијом. Остаје и могућност интраамнионске инфекције, још увек непотврђене или непрепознате стандардним процедурама, као разлог настанка IL-1 β у амнионској течности (262).

Ипак позната је чињеница да је концентрација IL-1 у амнионској течности знатно повећана у претерминским порођајима, у односу на порођаје који наступају у термину. Прецизније студије показују да то није случај са свим претерминским порођајима, већ само са онима који су праћени интраамнионском инфекцијом (251). Такође, утврђено је да труднице са претерминским порођајем, који је праћен интраамнионском инфекцијом, имају сличну концентрацију IL-1, као труднице са интраамнионском инфекцијом (доказаном микробиолошким анализом плодове воде) без претерминског порођаја (251). Важно је напоменути да се активност IL-1 у наведеним околностима предоминантно приписује IL-1 β (251). Концентрације IL-1 β (као и IL-1 α) су повећане две недеље пре настанка претерминског порођаја у цервиковагиналном секрету (256,263).

Студија *Romera* и сарадника (262) се бавила испитивањем концентрације IL-1 β у амнионској течности у три студијске групе: 1) труднице са претерминским порођајем и интактним плодовим овојцима са интраамнионском инфекцијом, 2) труднице са претерминским порођајем и руптурираним плодовим овојцима (PPROM) са интраамнионском инфекцијом, и 3) труднице са терминским порођајем са интраамнионском инфекцијом. Већа стопа детекције примећена је у групи претерминских порођаја са интраамнионском инфекцијом, у односу на порођаје у термину без обзира на присуство интраамнионске инфекције. Ова студија демантује претходно наведене тврдње да је концентрација IL-1 β искључиво везана за инфекцију, а не за порођај.

Могуће објашњење за ову тврдњу налази се у чињеници вероватно блаже микробиолошке инвазије амнионске шупљине настале у термину, у односу на ону насталу у трудноћама завршеним претерминским порођајима. Такође би се у обзир могао узети и временски период настанка инфекције, као и време експозиције микроорганизама.

Однос IL-1 α и IL-1 β у амнионској течности представља драгоцен податак у смислу цитокинског статуса породице IL-1 у терминским и претерминским порођајима. Већа стопа детекције IL-1 β последица је веће производње овог цитокина од стране макрофага, и креће се 9:1 у корист IL-1 β (262). Ипак, производњу ових цитокина у току инфламације не треба прописати искључиво макрофагима, већ и феталним кератиноцитима. На овај начин и мајка (макрофаги децидуе, амниона и хориона) и фетус (кератиноцити) учествују у одговору на инфекцију.

Ефекат IL-1 у иницијацији претерминског порођаја испитиван је и на анималним моделима (мишевима). IL-1 β стимулише производњу простагландина из децидуе, миометријума, амниона и хориона, али покреће порођај и уколико се апликује трудним мишицама (136,264). Примена антагониста IL-1 β може супримирати и одложити неповољне ефекте овог цитокина у покретању претерминског порођаја код мишица (136,265), али безуспешно уколико је исти покренут инфекцијом (266).

IL-1 се сматра кључним покретачем инфламације у претерминском порођају (256). Иницијација претерминског порођаја се једноставно може приписати покретањем комплексних молекуларних процеса индукованим оштећењем (механичким или физичким) или патогеним агенсима (инфекција) (256). Механизам је усмерен на активацију *toll like* рецептора експримираних на плодовим овојцима, децидуи и плацентном ткиву, на имунским и неимунским ћелијама (267), а чија активација доводи до покретања инфламаторног одговора, хемокинске активности и екстравазације леукоцита из периферног ткива у гестацијска ткива (268).

Модели на мишевима су објаснили механизам покретања претерминског порођаја праћеног инфекцијом. Главна улога се приписује *toll like 4* (TLR4) рецепторима (специфичним за ендотоксине Грам негативних бактерија) и *toll like 2* (TLR2) рецепторима (специфичним за егзотоксине Грам позитивних бактерија) (269). У хуманој популацији ови рецептори се налазе не само на гестацијским ткивима, већ и на грлићу материце, ендометријуму и јајоводу (270).

Повећана екстравазација леукоцита, настала активацијом ових рецептора, изазива и повећано лучење проинфламаторних цитокина (пре свега IL-1, TNF α , IL-6, IL-8...), а који простагландинском активношћу доводе до покретања претерминског порођаја (256,271). Из тог разлога, ови проинфламаторни цитокини, а посебно IL-1, називају се утеротрофинима – активаторима гравидне материце (272-274).

Појачана ексцитабилност материце последица је повећаног уласка калцијума у ћелије миометријума, било базалног нивоа калцијума, било изменом калцијум-калмодулин механизма (275,276). Ипак, не може се одбацити могућност ни инхибиције деловања прогестерона (са токолитичком активношћу) од стране IL-1 β , као ни евентуалне смањене производње истог (277). Трећи механизам се односи на производњу кортикотропниг ослобађајућег хормона (*Corticotrophin releasing hormone - CRH*). IL-1 β стимулише производњу рецептора за овај хормон у плаценти и инхибира ензим 11-бета хидроксистероид дехидрогеназу типа 2 (одговорног за инактивацију кортизола) што доприноси добро познатој стресогеној етиологији ексцитабилности утеруса и претерминског порођаја (278,279). Неоспорна је и експресија окситоцинских рецептора у децидуи, миометријуму и феталним мембранама, као и повећана производња фактора активације тромбоцита (*Platelet activating factor - PAF*) (249). PAF се производи у феталним бубрезима и плућима и детектује се из плодове вода, а има веома битну улогу у активирању цитокина и стимулацији производње PGE2 током инфекције (249,280).

IL-1 јесте први описан, али не и једини цитокин, који учествује у механизму порођаја – како терминског, тако и претерминског без обзира на механизам иницијације (251,260). IL-1 β је доказан у миометријуму, грлићу материце и плодовим овојцима непосредно и у току порођаја без обзира на присуство/одсуство инфекције (281,282). Вредности му се повећавају у плодовој води код претерминског порођаја, а посебно уколико је индукован инфекцијом (251,283). Детектује се и у крви мајке код претерминског порођаја (284), постељици и плодовим овојцима код инфекције, али и у ткиву материце (285-288).

Сумарно IL-1 β може бити добар предиктор претерминског порођаја праћеног инфекцијом јер јер је његова концентрација повећана:

- у плодовој води (283,289);
- у грлићу материце (иРНК IL-1 β) (290);
- у цервикагиналном секрету (261);
- у мајчиној и феталној крви (291,292).

Веома је важан однос IL-1 β и IL-1Ra у инфламаторној каскади која доводи до покретања порођаја. Код претерминског порођаја се у цервикагиналном секрету концентрација IL-1 β повећава, а концентрација IL-1Ra смањује. Тај однос је мањи уколико нема порођаја, што указује да се концентрација IL-1 β повећава у децидуи и последично детектује у слузи грлића пред порођај (263). IL-1Ra иначе има изузетну антиинфламаторну улогу на деловање IL-1 са следственим тонизирањем материце током читаве трудноће у физиолошким условима (263). Његова биорасположивост је неколико хиљада пута већа од заједничке расположивости IL-1 β и IL-1 α , али се тај однос мења непосредно пред порођај (спонтано – у термину или индуковано инфекцијом – пре термина) (263).

Механизми којима IL-1Ra остварује своје ефекте односе се на блокаду акумулације неутрофила у хориодецидуалној мембрани, као и смањење активности неутрофила уколико су већ у истој акумулирани (293). Такође смањује продукцију хемокина CXCL-8 као и ћелија које их продукују, као и продукцију неутрофилне еластазе у амниону. Не може се оспорити ни његов утицај на поједине сигналне путеве цитокина IL-1 (IRAK1 – кључног посредника *toll like* регулације) (293).

Коришћење IL-1 као маркера претерминског порођаја изазваног инфекцијом, имплицира могућност примене антагониста овог цитокина у спречавању како инфекције, тако и следственог претерминског порођаја. Смањена ефикасност токолитичких лекова у случају инфекције повећава стопу прематуритета и последичних секвела, како по плод тако и по мајку. Ни примена антибиотика није дала очекиване резултате у лечењу интраутерине инфекције и одлагању претећег порођаја (263). Примена антагониста IL-1 рецептора могла би да има охрабрујуће резултате, јер је досадашња примена на анималним моделима доказала заштитни ефекат на развој септичног шока (263). Најчешће примењивани су инхибитори IL-1, растворљиви рецептор за IL-1 и неутралишуће моноклонско анти IL-1 β антитело. Ипак ови лекови, иако се користе у другим гранама медицине (нпр. реуматологија), још увек нису одобрени за примену у трудноћи (256). Експериментална примена сулфасалазина као и неких инхибитора сигланих путева цитокина (*Phosphorylated mitogen activated protein kinase/stress activated protein kinase - MAPK/SAPK*) утиче на диференцијацију постељице (294,295).

Осим самих цитокина, испитивана је и улога ST2 рецептора у настанку претерминских порођаја. ST2L има протективно, док sST2 има инхибиторни ефекат на

Th2 имунски одговор као доминантан у физиолошкој трудноћи (169,218,219,296). Парадоксално sST2 се смањује у амнионској течности у насталим интраамнионским инфекцијама, насупротив његовој повећаној концентрацији у периферној крви. То се може објаснити активацијом антиинфламаторног дела имунског система како би се спречио штетан ефекат наглашеног инфламаторног одговора (169,220).

Међутим, нема разлика у концентрацији sST2 у амнионској течности код претерминског и терминског порођаја без интраамнионске инфекције. Такође, није испољена разлика у концентрацији sST2 у амнионској течности трудница на порођају у термину и оних који су у термину, али нису у активној фази порођаја. Ови резултати потврђују да је повећана концентрација sST2 у амнионској течности (слично IL-1) последица инфекције/инфламације, а не самог порођаја (169).

1.2.3. Галектин 3 (GAL-3)

Галектин 3 (GAL-3) представља један од највише проучаваних галектина, протеина који везују угљене хидрате, а који су укључени као имуномодулатори у бројне физиолошке и патолошке процесе (297,298). Раније коришћен назив за овај галектин био је Mac-2 као мембрански молекул перитонеалних макрофага мишева. И друга имена као синоними за GAL-3 се могу наћи у старијим научним радовима, као што су: CBP-35, IgE везујући протеин, L-29, L-34, CBP-30 (299). Тек је 1994. за све ове хомологе лектине усвојен зајенички назив галектин 3 који се користи и данас (300). Ген на хромозому број 14 (LGALS3) одговоран је за кодирање GAL-3.

GAL-3 припада категорији химерних галектина, сачињених од једног полипептидног ланца, који садржи два домена: N-терминални домен који је дугачак, богат амниокиселинама пролином, тирозином и глицином, и C-терминални домен који везује угљене хидрате, структурно идентичан C-терминалном домену других галектина (299,301-303).

N-терминални домен GAL-3 одговоран је за интеракцију са N-терминалним доменом других галектина (304). Његова улога се огледа и у секрецији GAL-3, јер недостатак почетних 11 аминокиселина овог домена доводи до престанка излучивања GAL-3 из ћелија (305,306). Уколико овај домен буде изложен дејству матрикс металопротеиназа (*Matrix Metalloproteinase, MMP*) MMP-2 и MMP-9, долази до кидања пептидних веза аланина и тирозина и смањења афинитета за везивање са N-терминалним доменом других галектина, а повећања афинитета за везивање угљених хидрата (307). N-терминални домен GAL-3 задужен је и за проапоптотске улоге овог галектина (308).

C-терминални домен је галектин специфичан. Садржи CRD (*Carbohydrate Recognition Domain*) специфичан регион одговоран за препознавање и везивање угљених хидрата (300), али и за везивање сопственог N-терминалног домена (309). CRD специфичан регион GAL-3 има улогу у антиапоптотској активности овог галектина (310).

GAL-3 је експримиран у имунским ћелијама (дендритским ћелијама, макрофагама, мастоцитима, NK ћелијама, T_H1 и B_L1), епителним и ендотелним ћелијама (311,312), у малигно трансформисаним ћелијама (313-315). Међутим, на његову дистрибуцију утиче фаза ћелијског циклуса, као и тип ћелије у којој је заступљен (316,317).

Локализација GAL-3 у трофобластним може бити ћелијска и ванћелијска. Унутар саме трофобластне ћелије GAL-3 се може наћи у ћелијском једру, цитоплазми и у ћелијској мембрани. У ћелијској мембрани локализован је са уделом од 65%, у цитоплазми

19,5%, 12% у плазми једра, док се у фракцији нуклеарног хроматина налази са уделом од 4,5% (318). Наведени подаци су добијени *Western blot* анализом, и треба их прихватити са резервом или их потврдити другим методама: проточном цитометријум, употребом поликлоналних антитела...

Унутарћелијски GAL-3 одговоран је за процесе пролиферације и диференцијације (311,319). Ванћелијски GAL-3 утиче на бројне физиолошке и патолошке процесе: адхезију ћелија, ангиогенезу, активацију ћелија имунског система и инвазију тумора (318,319). До сада описане функције овог галектина сежу од регулације метаболизма до имуномодулације (320,321).

Улога GAL-3 превасходно се везује за проинфламаторне процесе (322). Ипак, када је реч о инфламацији, улога овог галектина је најблаже речено амбивалентна. (320,322). Ванћелијски GAL-3 доприноси активацији имунских ћелија: адхезији неутрофила и миграцији макрофага, па је његова улога проинфламаторна (311,323). Такође је одговоран за регулацију проинфламаторних медијатора (IL-1 β , IL-8 и TNF α) (323,324). Унутарћелијски GAL-3 је повезан са антиинфламаторним ефектом, мада се то не може са сигурношћу тврдити (323). У инфекцијама узрокованим грам негативним бактеријама (нпр. *Escherichia coli*) запажен је антиинфламаторни ефекат GAL-3 у раној фази инфекције, док је каснија, продужена и прекомерна производња овог галектина узроковала проинфламаторни ефекат (323).

Поједине студије показују да висока експресија GAL-3 испољава блокирајуће ефекте на процес апоптозе појединих ћелија у организму (325-328). Ипак детаљније истраживање утврдило је да је за проапоптотски ефекат одговоран ванћелијски GAL-3, док се унутарћелијски GAL-3 одликује антиапоптотском улогом (325-328). Из наведеног закључујемо да локализација овог галектина вероватно опредељује и његову улогу.

1.2.3.1. Улога GAL-3 у трудноћи и порођају

Улога GAL-3 у анималним моделима је искључиво везана за трудноћу јер се у преимплантационом периоду у ендометријуму утеруса мишева не детектује овај галектин (318,329). Ипак је у испитивањима на хуманим моделима утврђено присуство GAL-3 у различитим фазама менструационог циклуса (330). Посебно се ово испитивање односи на средину секреторне фазе ендометријалног менструационог циклуса, што указује да је експресија GAL-3 вероватно хормонски условљена (330,331). Његова улога у овој фази циклуса односи се на појачану рецептивност секреторно измењеног ендометријума, као и на интеракцију ендометријума и ембриона (332).

Друга битна улога GAL-3 у секреторном ендометријуму односи се на пролиферацију и апоптозу ћелија, као одговора на насталу имплантацију (333-335). Ова два процеса наступају одмах након адхезије бластоцисте у секреторно измењени ендометријум, а који покреће сложене процесе у трофобласним ћелијама које су хормонски регулисани (336-338). Претпоставља се да је апоптоза ћелија ендометријума условљена деловањем GAL-3, механизам којим се обезбеђује простор за имплантацију ембриона, док су за пријемчљивост и везивање ембриона одговорни поједини интегрини (лиганди), такође регулисани GAL-3 (330,339). Недостатак ових интегрина може бити разлог неуспешне трудноће.

И естроген и прогестерон учествују у стимулацији експресије и секреције GAL-3 из трофобласних ћелија. Такође, кроз регулацију GAL-3, ови хормони утичу на диференцијацију и инвазију трофобласних ћелија (340,341). β субјединица хуманог

хорионског гонадотропина (β -hCG) који почиње интензивније да се лучи између 2. и 8. дана по имплантацији, утиче уз горе наведене хормоне на секрецију GAL-3 са улогом гласника између бластоците и децидуално измењеног ендометријума (342,343). Максимум интензитета експресије GAL-3 је током регресије жутог тела (344,345).

Стромалне ћелије децидуе у првом тромесечју трудноће се одликују обилном експресијом како унутарћелијског тако и ванћелијског GAL-3 (346,347). Полазећи од чињенице да је у ткиву плаценте овог периода трудноће откривен процес апоптозе, чини се да доминира ванћелијски GAL-3 (325,348). Током трудноће се степен апоптозе повећава, све до порођаја (325,349). Овај период такође одликује и диференцијација ћелија трофобласта и њихова пролиферација што оправдава једнако присуство унутарћелијског GAL-3 (325,349).

Сматра се да у трудноћи првог тромесечја равнотежа унутарћелијског GAL-3 који има антиапоптотски ефекат и ванћелијског GAL-3 који има проапоптотски ефекат, јесте одговорна за наставак трудноће. Доминација проапоптотског GAL-3 изазива апоптозу вилозних трофобласних ћелија што може бити повезано са спонтаним побачајем (325). Ипак ова премиса није потврђена јер досадашње студије потврђују да GAL-3 има битну улогу у апоптози ћелија ендометријума, али веза апоптозе ћелија трофобласта и абнормалне експресије GAL-3 није научно доказана као разлог спонтаног побачаја (325,350).

У првом тромесечју трудноће GAL-3 се експримира у цитотрофобласту урођеном у базалну мембрану, док синциотиотрофобласт, вилозна строма и ендотел крвних судова не експримирају овај галектин (347). Имунохистохемијске анализе постеличног ткива показале су позитивно имуно бојење за GAL-3 у интерстицијалном трофобласту, као и у мултинуклеарним циновским ћелијама постелице (фузионисаним интерстицијалним трофобластом) које су локализоване у близини миометријума (347).

Раније се сматрало да се GAL-3 не експримира у плодовим овојцима (346). Ипак истраживање *Stefanoske* и сарадника (351) оповргло је ту теорију. Постоји разлика у експресији GAL-3 у феталним мембранама са и без хориоамнионитиса. Амнионске епителне ћелије код хистолошки потврђеног хориоамнионитиса експримирају GAL-3 у апикалним слојевима (352). Унутарћелијска локализација GAL-3 везана је за једро ћелија амниона, што доводи у везу GAL-3 и процес транскрипције иРНК (353). Током инфламације, GAL-3 се ослобађа у ванћелијски простор и врши хемотаксију и активацију инфламаторних ћелија (354). Долази до дегранулације мастоцита, стварања супероксида и IL-1 у мастоцитима, стварања супероксида и IL-8 у неутрофилима и опсонизације апоптотичних неутрофила (351,355).

Експресија GAL-3 у цитотрофобласту здравог плацентног ткива се интензивира од првог до трећег тромесечја трудноће (344). Међутим, истраживања су показала промене у нивоу GAL-3 у крви труднице током напредовања трудноће. Концентрација GAL-3 се повећава у циркулацији мајке како се трудноће ближи порођају, а опада у случајевима неповољног исхода трудноће (нпр. спонтани побачај) (344). Ипак одређивање GAL-3 у случају сумње на спонтани побачај за сада нема већи предиктивни значај.

GAL-3 може у будућности бити моћан предиктивни маркер претерминског порођаја. Истраживања на ову тему спроведена су, за сада, само на анималним моделима. Парадонталне инфекције код мишева изазване бактеријама које продукују липополисахарид, повећале су концентрације GAL-3 у амнионској течности и серуму трудних мишица и довеле до претерминског порођаја. Концентрације овог галектина

биле су знатно повишене у односу на концентрације код порођаја који су наступили у термину (а који су такође праћени физиолошки повишеним концентрацијама GAL-3) (323).

Патолошка стања која компликују ток трудноће, такође могу утицати на експресију GAL-3. Један од примера јесте гестацијски дијабетес. Утврђена је повећана концентрација GAL-3 у серуму трудница са гестацијским дијабетесом у односу на труднице без дијагнозе гестацијског дијабетеса. Штавише, концентрација GAL-3 је била повећана у првом триместру трудноће код испитаница које су касније развиле гестацијски дијабетес. Потребна су детаљнија испитивања у раној трудноћи, у смислу, да ли овај галектин може бити потенцијални маркер у дијагнози гестацијског дијабетеса (356). У категорији испитаница које су већ развиле гестацијски дијабетес, концентрација GAL-3 је знатно повећана у трећем тромесечју, када су промене у кинетици овог галектина и најизраженије. Ова чињеница нам указује на метаболичке и хормонске промене које утичу на експресију GAL-3 у гестацијском дијабетесу (344).

Експресија GAL-3 је повећана у плазми трудница са хипертензивном болешћу. Показало се да GAL-3 не само да регулише ремоделирање ткива код кардиоваскуларних болести, већ његово повећање у плазми, корелира са конвенционалним факторима ризика за ову патологију (357). Експресија GAL-3 је такође повећана и у екстравилозном трофобласту плаценте из хипертензивних трудноћа. Код преекламптичних постелица идентификовано је снажно бојење GAL-3 у ћелијским мембранама, док је код HELLP синдрома утврђена преодминантна цитоплазматска локализација GAL-3 ћелија екстравилозног трофобласта (358). Ипак, поједине студије дају податак о смањеној концентрацији GAL-3 у постелици, али и у плазми хипертензивних трудноћа код којих се порођај догодио пре 34. недеље трудноће. Разлог томе вероватно лежи у чињеници да је смањена производња GAL-3 у постелици, разлог и смањене количине излученог GAL-3 у циркулацију мајке (359).

Повећана производња GAL-3 у серуму дешава се у случајевима оксидативног стреса. GAL-3 стимулише ангиогенезу кроз пут завистан од васкуларног ендотелног фактора раста (VEGF), а који везивањем за одговарајући рецептор повећава осетљивост на VEGF. Стимулација ангиогенезе и антиапоптоТСки ефекат GAL-3 из тог разлога могу имати кључну улогу у развоју прееклампсије (360).

Повећање GAL-3 није нађено код интраутериног застоја у расту плода (*IUGR – Intrauterine growth restriction*) у хуманој популацији (344). Међутим, неке студије ипак наводе слаб интензитет бојења GAL-3 у екстравилозном трофобласту постелица са IUGR у односу на постелице из трудноћа без IUGR (358). Недостатак GAL-3 током ране гестације мења диференцијацију трофобласта и његову васкуларизацију те следствено изазива промене у плацентној перфузији, а што може бити разлог интраутериног застоја у расту. Овај закључак изведен је из студије спроведене на мишевима и није потврђен као могући патофизиолошки механизам у хуманој популацији (361).

Неке разлике у концентрацији GAL-3 су нађене код деце мале порођајне масе за терминску гестацијску старост (*SGA – Small for gestational age*) и деце које су постигле задовољавајућу телесну масу, такође рођених у термину. Концентрација GAL-3 је одређивана у крви пупчане врпце и показала је већу експресију код деце мале порођајне масе. Овакве измене у концентрацији GAL-3 су вероватно последица повишених инфламаторних медијатора (322,362).

Познато је да су галектини изражени у многим неопластичним процесима, те да имају улогу у трансформацији ћелије, инвазији патолошки измењене ћелије и појави

метастаза (297). Детектоване су јако изражене концентрације GAL-3 у комплетној и инкомплетној моларној трудноћи, хориокарциному и туморима плацентног лежишта (297). Повећања концентрација овог галектина у односу на концентрацију у плацентном ткиву здравих трудноћа повезана је са интензивном трансформацијом ћелија за коју је GAL-3, између осталог, одговоран (363).

1.2.4. Интерлеукин 6 (IL-6)

IL-6 представља цитокин који има читав спектар разноврсних биолошких активности. Тај мултифункционални интерлеукин се одликује преобладавањем проинфламаторном улогом у хуманој популацији (364,365). Његово откривање везано је за 1970. годину, када је идентификован као растворљиви протеин кога производе T_H1 и који диференцира B_H1 у плазмаците. Сходно томе, назван је Фактор 2 стимулације B_H1 (*BSF-2 - B cell stimulatory factor 2*) (366,367).

У зависности од мултиплих функција, IL-6 се кроз литературу налази под различитим именима: фактор стимулације хепатоцита (*HSF - hepatocyte-stimulating factor*) са утицајем на синтезу протеина акутне фазе инфламације у хепатоцитима, фактор раста хибридома (*HGF - hybridoma growth factor*) са стимулативним деловањем на фузију плазмацита и ћелија мијелома, а због његове антивирусне активности називао се и интерфероном $\beta 2$ (*IFN $\beta 2$ - interferon $\beta 2$*) (368,369). 1986. године је утврђено да сви наведени молекули имају идентичну структуру, па је назив обједињен 1988. године, данас актуелним називом - интерлеукин 6 (368,370).

Ген за IL-6 налази се на кратком краку хромозома број 7, у региону 21 (7p21), а који кодира производ од 212 аминокиселина (368). То је једноланчани фосфорилисани гликопротеин који се састоји од четири спирална снопа, од којих се по два пружају у супротним смеровима и једног мањег хеликса који повезује наведене спирале (364,371). Његова молекулска тежина износи 21-26 kDa (368).

Механизам деловања IL-6 се заснива на његовој интеракцији са рецептором за IL-6 (IL-6R) и компонентом за трансдукцију сигнала, т.к. сигналним рецептором, гликопротеином од 130 kDa (gp130) (371). IL-6R постоји у два облика: мембрански (mIL-6R) и солубилни (sIL-6R). mIL-6R је експримиран на мембранама неутрофила, хепатоцита, моноцита и T_H1 и одговоран је (након везивања са IL-6 и следственог везивања за gp130) за физиолошке функције IL-6 (372). sIL-6R има мањи афинитет према везивању са IL-6, те уколико дође до њиховог везивања формира се димер. Наведени комплекс се повезује са две подјединице gp130 и формирају хетеротример, а који се са другим хетеротримером спаја и формира хексамер. Тај хексамерни комплекс извршава различите патолошке функције IL-6 у зависности од локализације gp130 (373). sIL-6R је суштински носач IL-6 на патолошко место које садржи gp130.

Класични пут сигнализације остварује се интеракцијом IL-6R, mIL-6R и gp130, углавном у леукоцитима и хепатоцитима, и одговоран је за антиинфламаторну улогу IL-6R. Транс-сигнални пут активације је одговоран за проинфламаторну улогу IL-6R након његове интеракције са sIL-6R и gp130, односно формирањем претходно описаних хексамерних комплекса (364,374). Цео овај комплекс активира потом јанус киназу (JAK) - трансдуктор сигнала и активатор транскрипције, задужену за многе физиолошке и патолошке улоге IL-6 (375).

Физиолошке улоге IL-6 су многобројне и разноврсне, преважно везане за имуномодулаторни и инфламаторни процес (364). IL-6 стимулише производњу

адренкортикотропног хормона (АСТН) у предњем режњу хипофизе, као и синтезу неронског фактора раста. Његова улога је описана у регулацији раста и развоја хематопоезних ћелија, као и ембрионалних матичних ћелија (375). Делује као стимулус за сазревање $L\alpha$, стимулише синтезу плазмоцита и лучење имуноглобулина, индукује пролиферацију $T\alpha$, као и њихову диференцијацију у НК ћелије (364). Позната је улога $IL-6$ у регенерацији јетре, пролиферацији коже и зарастању рана, диференцијацији и пролиферацији неуронских ћелија (вероватно преко претходно наведеног неронског фактора раста) (364). Метаболизам костију је такође регулисан $IL-6$, кроз индукцију остеокластогенезе. У експерименталним условима, инхибиција гена за $IL-6$ код глодара, не доводи до губитка коштане густине након оваријектомије (364).

$IL-6$ има изузетан значај у процесу инфламације. Након деловања инфламаторног стимулуса, инфекције, трауме и стреса долази до брзе индукције широког спектра протеина акутне фазе инфламације као што су: α реактивни протеин (CRP), серумски амилоид А (SAA), фибриноген, хаптоглобин... Истовремено долази до смањења нивоа албумина, трансферина и фибронектина. Сви наведени ефекти се испољавају у хепатоцитима, што оправдава ранији назив $IL-6$ (*HSF - hepatocyte-stimulating factor*) (368). $IL-6$ смањује ниво Fe и Zn у серуму који се уочавају код инфламације (368,376).

Експериментално ињектирање ендотоксина у хуманој популацији доводи до повећања нивоа $IL-6$ за два сата (368,375). Инхибиција гена за $IL-6$ код мишева доводи до ослабљеног имунског одговора на вирусне и бактеријске инфекције, али не и на стимулацију липополисахаридом. $IL-6$ врши стимулацију васкуларног ендотелног фактора раста (*VEGF - Vascular endothelial growth factor*) чиме учествује у ангиогенези и повећаној васкуларној пермеабилности, што су патолошке одлике инфламаторних процеса акутног и хроничног тока, као и низа аутоимунских болести (368,377).

У репродуктивном систему жене позната је улога $IL-6$ у регулацији менструационог циклуса, док код мушкараца важну улогу има у процесу сперматогенезе (364). У физиолошкој или артефицијалној менопаузи долази до повећања концентрације $IL-6$ у крви жена, што је последица супресије естрогене инхибиције (378). Кортикостероиди супримирају повећану продукцију овог цитокина чиме се доказује њихов антиинфламаторни ефекат (368). Код здравих одраслих особа оба пола у репродуктивној доби, концентрација $IL-6$ у крви износи $<10 \text{ pg/mL}$, док је код новорођенчета та концентрација нешто већа (вероватно због порођајног стреса) и износи $18-26 \text{ pg/mL}$ (375).

$IL-6$ је главни цитокин у туморском микроокружењу и изузетно је повећане концентрације код карцинома јајника, простате, дојке, грлића материце, бубрега... У таквим околностима регулише низ генских механизма који доводе до пролиферације, диференцијације и апоптозе ћелија, ангиогенезе и метастаза (379). Сматра се да је дегенерација сиве и беле масе код мултипле склерозе последица деловања $IL-6$ на астроците и глијалне ћелије (380). $IL-6$ је повећане концентрације у хроничном стресу и физиолошком процесу старења који повећавају склоност ка Алцхајмеровој деменцији (381).

Реуматоидни артритис је можда најиспитиваније патолошко стање повезано са повећаном концентрацијом $IL-6$, што због његовог директног деструктивног ефекта на зглобне површине и синовије, што због индиректног ефекта интензивирања производње VEGF (382). У анемији, $IL-6$ доводи до повећања концентрације хепцидина који ремети цревну апсорпцију Fe (383). Повећане концентрације $IL-6$ код улцерозног колитиса и Кроне болести су обрнуто пропорционалне прогнози ових хроничних инфламаторних

процеса (368). Велики терапијски помак начињен је употребом хуманизованог анти-IL-6R моноклонског антитела (*Tocilizumab*).

1.2.4.1 Улога IL-6 у трудноћи и порођају

Интензитет експресије IL-6 у ендометријуму зависи од фазе менструационог циклуса. У пролиферативној фази је она слабије изражена у односу на овулацију и лутеалну фазу. IL-6 има доказану улогу у рецептивности ендометријума за оплођену јајну ћелију што је доказано његовом најизраженијом експресијом у касној лутеалној фази, а која је компатибилна са временским периодом усађивања бластоцисте (384).

Мерење циркулишуће концентрације IL-6 показује да је овај цитокин повећан у крви трудница у односу на негравидну популацију (384,385). Међутим, информације о варијацији концентрације IL-6 у односу на гестацијску старост су опречне. Неколико студија извештава о повећању циркулишућег IL-6 са напредовањем гестације (384-387), док друге наводе да нема промена у његовој концентрацији (384,388) или да се чак смањује како се трудноћа приближава термину (384,389).

Улога IL-6 у ендометријуму је двојака. Он стимулише инвазију и миграцију трофобласта, а учествује и у ремоделирању спиралних артерија (384,390). Доприносећи ефекат у наведеним физиолошким процесима потиче и од IL-6 којег лучи бластоциста (384,391). IL-6 регулише синтезу β субјединице хуманог хорионског гонадотропина (β -hCG) (392) као и хуманог плацентног лактогена (HPL), чиме у значајној мери, индиректно, утиче на ток трудноће (393).

У првом триместру трудноће IL-6 се детектује у децидуи и то у децидуалним стромалним ћелијама, али и у различитим имунским ћелијама (макрофаки, CD8+TLy), док се у плаценти верификује у цито и синциотиотрофобласту, и екстрацилозном цитотрофобласту (384). Експримација рецептора за IL-6 се такође мења са гестацијском старашћу. У децидуално измењеном ендометријуму mIL-6R и gp130 су изражени у ендометријалним жлездама, међутим по постизању трудноће долази до интензивирања експресије sIL-6R. Овај однос се мења након 10. недеље трудноће у корист доминације mIL-6R, чија се експресија повећава са напредовањем трудноће (394,395).

Тачна улога IL-6 у порођају још увек није разјашњена. Међутим, зна се да IL-6 стимулише производњу простагландина и окситоцина, који изазивају сазревање грлића материце и материчне контракције. Синтеза простагландина стимулисаног IL-6 дешава се у децидуалним ћелијама и плодовим овојцима (384). Под утицајем IL-6 долази и до повећања експресије рецептора за окситоцин на глатким мишићним ћелијама материце (396), а истезање материце доводи до повећане продукције проинфламаторних цитокина (међу којима и IL-6) чиме се ствара један узрочно последични процес. Међутим IL-6 сам по себи није довољан да покрене порођај, што је доказано у експерименталним условима (384).

Концентрација IL-6 се повећава у миометријуму, цервиковагиналном секрету и плазми трудница како се трудноћа приближава термину порођаја у односу на негравидну популацију (397,398). Током порођаја, концентрација IL-6 се повећана скоро 2 пута у односу на вредности у трудноћи и пре трудноће. Постоји позитивна корелација концентрације IL-6 и гестацијске старости (397,399).

Полазећи од познате чињенице да IL-6 стимулише производњу АСТН и следствену продукцију кортизола, долазимо до још једне могуће теорије о покретању

порођаја активацијом и стимулацијом материчних контракција. Ова улога се приписује углавном феталном IL-6 (397,400).

Како смањена, тако и повећана концентрација IL-6 може утицати на неповољан исход трудноће. Знајући да је IL-6 укључен у регулацију инвазије трофобласта и ремоделирање спиралних артерија, његова смањена концентрација довешће до следственог спонтаног побачаја. Наведена премиса је и потврђена смањеном концентрацијом IL-6 у децидуалним макрофагима и у серуму трудница чије су трудноће завршене спонтаним побачајем у односу на нормалне трудноће (384,401).

Поједине студије наводе пак повећане концентрације овог цитокина у децидуалном ткиву, плазми и серуму трудница са спонтаним побачајем. То је објашњено чињеницом да појачано проинфламаторно стање у раној трудноћи би могло бити штетно и угрозити њен даљи ток. Опречни резултати везе између спонтаног побачаја и IL-6 се могу објаснити зналајно различитом етиопатогенетском позадином овог патолошког исхода трудноће. Самим тим IL-6 не може представљати поуздан маркер за предикцију спонтаног побачаја (384,402).

Повећана концентрација IL-6 нађена је у амнионској течности, цервиковагиналном брису и у плазми трудница чије су трудноће завршене порођајем пре 37. недеље гестације у односу на труднице са терминским порођајем (397,403). Инхибиција лучења IL-6 употребом специфичних антитела, у експерименталним условима на мишевима, смањује производњу простагландина у амнионским епителним ћелијама чиме се може одложити претермински порођај (397,404).

Обзиром да је IL-6 и проинфламаторни цитокин логично је повећање његове концентрације у плодовој води током хориоамнионитиса. Такође се у току овог инфламаторног процеса повећава број неутрофила и макрофага који луче IL-6 (397). Порекло неутрофила се разликује у зависности од гестацијског ткива, па су мајчиног порекла у хориону и децидуи, а феталног порекла у амниону и плодовој води. Неутрофили су најдоминантнија инфламаторна ћелија која повећава стварање sIL6R са своје мембране чиме се повећава деловање IL-6 (397,405).

Макрофаги су мајчиног порекла у децидуи и феталног порекла у постељици, док су у плодовој води и мајчиног и феталног порекла (406). Веза IL-6 и макрофага је двојака: IL-6 преко производње фактора раста макрофага (M-CSF) стимулише њихово стварање, док у току инфекције макрофаги производе IL-6 потенцирајући ефекте инфламације на порођај (286). M1 категорија макрофага има проинфламаторни, док M2 категорија макрофага поседује антиинфламаторни ефекат. Током хориоамнионитиса, следствено, доминира M1 категорија макрофага (407,408).

И ендотелне ћелије крвних судова експримирају IL-6R и продукују IL-6, као и адхезивних молекула омогућавајући регрутовање и интеракцију леукоцита са ендотелним ћелијама у хориоамнионитису (405,409).

Сматра се да су смањена инвазија трофобласта и дефектно ремоделирање спиралних артерија неки од главних патофизиолошких механизма у настанку прееклампсије. Осим тога, ендотелна дисфункција, која такође прати ово патолошко стање у трудноћи, доприноси следственој хипоксији и повећаном ослобађању проинфламаторних цитокина (410). Последично произведени проинфламаторни цитокини, међу којима и IL-6, заједно са реактивним кисеоничким радикалима погоршавају започет патолошки процес, стварајући дисбаланс вазоконстриктора и

вазодилататора, у корист првих што доводи до хипертензије и фетоплацентне инсуфицијенције (411).

Повећана експресија IL-6 нађена је у децидуалним ћелијама и постељици из преекламптичних трудноћа, као и у плазми трудница са хипертензивном болешћу (411,412). Осим IL-6, повећана је и концентрација gp130 у серуму трудница са прееклампсијом, али и смањење sIL-6R у односу на здраве труднице (413). Међутим, поједине студије одбацују повезаност концентрације IL-6 у серуму мајке и прееклампсије (414,415). Ипак, остаје неразјашњено, да ли и у којој мери IL-6 корелира са тежином прееклампсије.

Студије које су анализирале повезаност IL-6 и гестацијског дијабетеса дају опречне резултате. Резултати последњих истраживања показују да су серумске концентрације IL-6 повећане код трудница са гестацијским дијабетесом у односу на еугликемијске трудноће (416). Према томе, IL-6 може послужити као значајан дијагностички критеријум у верификацији овог перинатолошког проблема.

2. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА

2.1. Циљеви и хипотезе истраживања

Основни циљ овог истраживања је да се испита удруженост експресије GAL-3 и проинфламацијских цитокина који играју кључну улогу у развоју претерминског порођаја што би пружило оквир за даља истраживања о улози GAL-3 у патогенетском механизму и терминског и претерминског порођаја.

У складу са основним циљем постављени су следећи експериментални задаци:

1. Испитати експресију GAL-3 у ткиву постелице и плодовим овојцима и утврдити концентрацију GAL-3 у серуму добијеном из крви мајке и крви пупчаника у терминским и претерминским порођајима.
2. Испитати експресију IL-1 β у ткиву постелице и плодовим овојцима и утврдити концентрацију IL-1 β у серуму добијеном из крви мајке и крви пупчаника у терминским и претерминским порођајима.
3. Испитати експресију IL-6 у ткиву постелице и плодовим овојцима и утврдити концентрацију IL-6 у серуму добијеном из крви мајке и крви пупчаника у терминским и претерминским порођајима.
4. Испитати да ли постоји корелација између испитиваних параметара у ткиву постелице и плодовим овојцима и серумима и да ли су у корелацији са системским биохемијским маркерима инфламације.

Радне хипотезе испитивања:

1. Експресија GAL-3 у ткиву постелице и плодовим овојцима и серуму је већа у случајевима претерминског порођаја удруженог са хориоамнионитисом у поређењу са терминским порођајем без хориоамнионитиса.
2. Експресија IL-1 β у ткиву постелице и плодовим овојцима и серуму је већа у случајевима претерминског порођаја удруженог са хориоамнионитисом у поређењу са терминским порођајем без хориоамнионитиса.
3. Експресија IL-6 у ткиву постелице и плодовим овојцима и серуму је већа у случајевима претерминског порођаја удруженог са хориоамнионитисом у поређењу са терминским порођајем без хориоамнионитиса.
4. Постоји корелација између испитиваних параметара у ткиву постелице и плодовим овојцима и серумима као и корелација GAL-3 и инфламацијских цитокина са системским биохемијским маркерима инфламације у крви мајке и крви пупчаника.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.1. Врста студије

Студија је дизајнирана као клиничка, експериментална и контролисана, на материјалу хуманог порекла. Истраживање је спроведено на Клиници за гинекологију и акушерство Универзитетског клиничког центра Крагујевац и у Центру за молекуларну медицину, Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу. Студија је одобрена од стране Етичког одбора Универзитетског клиничког центра у Крагујевцу (одлука заведена под бројем 01/17-4259) и Етичког одбора Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу (одлука број 01-12994).

Средства за финансирање студије обезбеђена су из Пројекта Министарства просвете, науке и технолошког развоја републике Србије (број 175069) и Јуниор пројекта Факултета медицинских наука, Универзитета у крагујевцу (ЈП 04/21).

У овом истраживању учествовало је 62 испитанице, које су подељене у две групе – експерименталну и контролну. Све труднице које су учествовале у студији су биле упознате са поступком истраживања, као и информацијом да ће се њихови лични подаци и подаци добијени анализом биолошког материјала у студији, користити искључиво у научно – истраживачке сврхе. Након тога су испитанице потврдили добровољно учешће у студији давањем писане сагласности.

Протокол истраживачке студије се придржаво важећих верзија Хелсиншке декларације, Светске медицинске асоцијације (www.wma.org, приступ мај 2005), као и Добре клиничке праксе, Међународне конференције за хармонизацију (www.ich.org, приступ мај 2005).

3.2. Место обављања истраживања

Истраживање је спроведено на Клиници за гинекологију и акушерство Универзитетског клиничког центра Крагујевац и у Центру за молекуларну медицину, Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу.

Узорци биолошког материјала узорковани су у породилишту Клинике за гинекологију и акушерство Универзитетског клиничког центра Крагујевац. Анализа биолошког материјала обављана је у:

- Центру за молекуларну медицину, Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу (*ИН постелјичног ткива, ELISA серума, PCR постелјичног ткива*),
- Служби за патоанатомску дијагностику, Универзитетског клиничког центра Крагујевац (*HE бојење и хистолошка анализа постелјичног ткива*),
- Служби за лабораторијску дијагностику, Универзитетског клиничког центра Крагујевац (*Le, CRP, фибриноген серума*),
- Лабораторији за микробиолошку анализу, Универзитетског клиничког центра Крагујевац (*цервиковагинални брис*).

3.3. Испитаници

У овој истраживачкој студији учествовало је 62 испитанице (труднице у моменту порођаја) које су подељене у две групе. Прву групу (експериментална група - Е) чинило је 40 трудница са претерминским порођајем (који је наступио од 25.0 до 36.6 недеље трудноће), рачунајући време од првог дана последње менструације тј. време према акушерском термину. Другу групу (контролна група - К) чинило је 20 труднице са терминским порођајем (који је наступио од 37.0 до 41.6 недеље трудноће), такође

рачунајући време према акушерском термину. Све труднице су порођене вагиналним путем, са или без начињене епизиотомије.

Труднице из обе групе су писаном сагласношћу, након детаљног упознавања са реализацијом студије, добровољно прихватиле да учествују у студији. Свака испитаница имала је право да без икаквог објашњења, добровољно, без обзира на потписану сагласност за учествовањем у студији, напусти истраживање у било ком тренутку студије. Није било испитаница у току спровођења наведене студије, које су искористиле наведено право.

3.4. Укључујући и искључујући критеријуми

Испитанице су чиниле здраве труднице са започетим претерминским и терминским порођајем. Основни услов за укључивање у студију био је да испитаница није оптерећена коморбидитетима, односно болестима које могу компликовати ток трудноће: дијабетесом (хроничним или гестацијским), тромбофилијом (урођеном или стеченом), хипертензијом (преегзистентном или насталом у трудноћи), акутним и хроничним инфламаторним болестима (урогениталног, гастроинтестиналног, кардиоваскуларног, ендокриног и централног нервног система) и аутоимунским болестима (реуматоидним артритисом, системским еритемским лупусом, васкулитисом...), као и било каквим малигним болестима, а које својом (потенцијалном) инфламаторном основом могу утицати на резултате студије. Свака испитаница прилагала је и уредан извештај стоматолошког прегледа начињен у последњих шест месеци.

Други, никако мање важан услов за укључивање у студију, односио се на примену антибиотске и кортикостероидне терапије. Испитанице нису користиле антибиотску терапију најмање две недеље пре започињања (претерминског и терминског) порођаја. Код испитаница, посебно у експерименталној групи са претерминским порођајем, није спроведена фетална артефицијална пулмонална матурација кортикостероидном терапијом, нити је иста коришћена у терапији месец дана пре наступајућег порођаја.

Код испитаница како контролне, тако и експерименталне групе нису коришћени простагландински препарати у циљу индукције порођаја, или његове стимулације. Све испитанице које су третиране простагландинским препаратима, нису учествовале у студији. Примена окситоцинских препарата није била ограничавајући чинилац приликом регутовања испитаница за учешће у истраживању.

Свака испитаница имала је право да без икаквог објашњења, добровољно, без обзира на потписану сагласност за учествовањем у студији, напусти истраживање у било ком тренутку студије. Није било испитаница у току спровођења наведене студије, које су искористиле наведено право. Такође, повреда протокола истраживања, било од стране испитанице, било од стране (једног или више) истраживача у студији, био је искључујући критеријум.

УКЉУЧУЈУЋИ КРИТЕРИЈУМИ	ИСКЉУЧУЈУЋИ КРИТЕРИЈУМИ
добровољни пристанак трудница са започетим претерминским или терминским порођајем	одбијање трудница са започетим претерминским или терминским порођајем да учествују у студији
Bishop скор >5	Bishop скор ≤5
трудноћа некомпљикована хроничним или гестацијским дијабетесом	трудноћа компљикована хроничним или гестацијским дијабетесом
трудноћа некомпљикована преегзистентном или гестацијском хипертензијом	трудноћа компљикована преегзистентном или гестацијском хипертензијом
трудноћа некомпљикована урођеном или стеченом тромбофилијом	трудноћа компљикована урођеном или стеченом тромбофилијом
трудноћа некомпљикована акутним или хроничним инфламаторним болестима	трудноћа компљикована акутним или хроничним инфламаторним болестима
трудноћа некомпљикована аутоимунским болестима	трудноћа компљикована аутоимунским болестима
трудноћа некомпљикована малигним болестима	трудноћа компљикована малигним болестима
приложен уредан стоматолошки налаз	неприложен, неуредан или некомплетан стоматолошки налаз
без примењене антибиотске терапије најмање две недеље уназад	са примењеном антибиотском терапијом у току последње две недеље
без примењене кортикостероидне терапије најмање месец дана уназад	са примењеном кортикостероидном терапијом у току последњих месец дана
без примене простагландинских препарата у циљу индукције и стимулације порођаја	примена простагландинских препарата у циљу индукције и стимулације порођаја
	повреда протокола истраживања
	добровољно напуштање започетог учешћа у студији

Табела 3.1. Укључујући и искључујући критеријуми

3.4.1. Бишопов (Bishop) скор

Бишоп скор представља акушерски оријентир који се заснива на збиру 5 кључних карактеристика везаних за промене грлића гравидне материце и ангажованост предњачећег дела плода према порођајном каналу. Промене везане за грлић материце процењују се дигиталним прегледом, док се ангажованост предњачећег дела плода процењује комбинованим спољашњим и унутрашњим прегледом, при чему нам као оријентир служи замишљена линија која спаја две седалне бодље (*spina ishiadica*). Негативни бројеви показују да је предњачећи део изнад ове линије, 0 да је у њеном нивоу, а позитивни бројеви да је прењачећи део испод ове линије.

Процена је изузетно субјективна и не може се, *a priori*, користити као искључиво суверена и научно изолована, али може као допунска, јер оправдава критеријуме везане за укључивање и искључивање испитаница у нашу студију. Бишоповим скором акушер процењује започињање порођаја, услове за вођење порођаја, време за укључивање индукције и стимулације, али и брзину напредовања порођаја. Његов значај је утолико

већи уколико се око збира сложе више акушера, након обављања унутрашњег гинеколошког (акушерског) прегледа труднице (417).

Свака од 5 компоненти Бишововог скорa се бодује од 0 до 2 или 3 бода (у зависности од компоненте која се бодује), а крајњи збир је 10. Иако је скор субјективан и преодминантно се у клиничкој пракси користи у процени вероватноће вагиналног порођаја, као и процене адекватног времена за укључивање индукције, у нашој студији је коришћен искључиво као потврда започетог вагиналног порођаја. Добра предиктивна вредност Бишоп скорa за вагинални порођај је ≥ 5 , али у нашој студији су све испитанице имале вредности ≥ 7 .

карактеристике	бодови			
	0	1	2	3
грлић	назад	центар	напред	-
позиција	чврст	умерен	мекан	-
конзистенција	0-30	40-50	60-70	>80
скраћење (%)	затворен	1-2	3-4	≥ 5
дужина (cm)	-3	-2	-1 и 0	+1 и +2
ангажованост предњачећег дела				

Табела 3.2. Карактеристике Бишововог скорa

3.5. Врста биолошког материјала

Након разврставања испитаница у експерименталну или контролну групи, а на основу укључујућих критеријума и започетог претерминског или терминског порођаја, као и након добијања писане сагласности трудница (испитаница) за добровољним учешћем у истраживању, приступали смо узимању биолошког материјала за испитивање.

Биолошки материјал коришћен у истраживању у нашој студији, без обзира да ли испитаница припада експерименталној или контролној групи, односи се на:

1. 2x5 ml крви из кубиталне вене испитанице;
2. 2x2 ml крви из умбиликалне вене пупчане врпце;
3. цервикавагинални брис;
4. комплетно постелично ткиво са плодовим овојцима;
5. узорак ткива постелице и плодовах овојака у количини до 2 гр.

3.6. Узорковање биолошког материјала

3.6.1. Узорковање крви из кубиталне вене

Испитаницама, како експерименталне тако и контролне групе, узимали смо два узорка крви у количини од по 5 ml из кубиталне вене, стандардним *Vacutainer* системом у стерилне, хепаринизирани, вакууминизирани епрувете, поштујући принципе антисепсе. Један узорак крви (серум) користили смо за стандардна лабораторијска испитивања (број леукоцита, концентрација CRP-а и фибриногена), а други узорак крви (серум) за испитивање концентрације цитокина (IL-1 β , IL-6, IL-33, GAL-3). Узорак крви из кубиталне вене код испитаница узет је при минималној дилатацији грлића материце од 7 cm (порођај наступао најдуже у наредна три часа од момента узимања крви).

3.6.2. Узорковање крви из вене пупчаника

Испитаницама, како експерименталне тако и контролне групе, узимали смо два узорка крви у количини од по 5 ml из пупчане вене, стандардним *Vacutainer* системом у стерилне, хепаринизирани, вакууминизирани епрувете, поштујући принципе антисепсе. Узорак крви узимали смо у првом минуту након клемовања пупчане врпце стерилним клемима. Један узорак крви (серума) користили смо за стандардна лабораторијска испитивања (број леукоцита, концентрација CRP-а и фибриногена), а други узорак крви (серума) за испитивање концентрације цитокина (IL-1 β , IL-6, IL-33, GAL-3).

3.6.3. Узорковање цервикавагиналног бриса

Код испитаница код којих је дошло до спонтане руптуре плодних обојака узимали смо цервикавагинални брис стерилним штапићима, коришћењем посебно конструисаних, стерилних спекулума/екартера, а под контролом ока. Резултат смо поредили са последњим резултатом цервикавагиналног бриса које испитаница доноси у тренутку пријема на породилиште Клинике за гинекологију и акушерство, Универзитетског клиничког центра.

Код испитаница код којих није дошло до руптуре плодних обојака узимали смо цервикавагинални брис стерилним штапићима, коришћењем посебно конструисаних, стерилних спекулума/екартера, а под контролом ока, непосредно пред јатрогену амниотомију (прокидање плодних овојака). Резултат смо поредили са последњим резултатом цервикавагиналног бриса које испитаница доноси у тренутку пријема на породилиште Клинике за гинекологију и акушерство, Универзитетског клиничког центра.

Узорак цервикавагиналног бриса користили смо за микробиолошку анализу, са сврхом детекције евентуалне цервикавагиналне инфекције пре руптуре плодних овојака или потврђивања евентуалне интраамнионске инфекције - изолацијом микроорганизама из плодове воде након руптуре плодних овојака.

Ови узорци, обзиром на могућност накнадне контаминације (јер вагина није стерилна средина, посебно код спонтане руптуре плодних овојака), коришћени су као алтернативни параметри и из тог разлога су поређени са резултатима последњег цервикавагиналног бриса урађеног у периоду не дужем од 15 дана пре започетог порођаја.

3.6.4. Узорковање постеличног ткива

Након претерминског или терминског порођаја, узимали смо комплетан постелични диск са плодним овојцима, које смо одлагали у посебно конструисане пластичне, хемијски чисте посуде испуњене формалином до тренутка достављања у Службу за патохистолошку дијагностику, Универзитетског клиничког центра Крагујевац.

Непосредно пре одлагања постеличног ткива са плодним овојцима у посуду са формалином, обављана је макроскопска анализа постелице, посматрање феталне и матерналне стране, присуство комплетних постеличних котиледона и очуваност плодних овојака, као и место инсерције пупчане врпце.

Постељично ткиво са плодовим овојцима служило је за потврду или одбацивање дијагнозе хориоамнионитиса, након стандардне патохистолошке анализе и имунохистохемијског испитивања.

Пре одлагања постељичног диска са плодовим овојцима у формалин, узимали смо са (уколико се визуелизују макроскопски) суспектних места постељичног диска (замућења плодових овојака, пребојеност плодових овојака, едем плодових овојака и постељичног ткива, присуство фибропурулентног садржаја) више узорака постељице и плодових овојака у укупној количини до 2 gr, одлагали у посебно конструисане епруветице (криовајлице) и складиштили на -80°C . Узорке смо по одмрзавању користили за PCR дијагностику. Овом методом одређивали смо релативну количина иРНК за IL-1 β , IL-6, IL-33 и GAL-3.

3.7. Достављање и чување биолошког материјала

Узорак крви из кубиталне вене испитанице и умбиликалне вене који је служио за одређивање броја леукоцита, концентрацију CRP-а и фибриногена, обрађиван је у Служби за лабораторијску дијагностику, Универзитетског клиничког центра Крагујевац непосредно након узимања узорка. Узорак крви смо добили стандардним *Vacutainer* системом у стерилне, хепаринизирание, вакууминизирание епрувете, поштујући принципе антисепсе, и у истима транспортован уз одговарајућу пропратницу до Службе за лабораторијску дијагностику.

Узорак крви из кубиталне вене испитанице и умбиликалне вене који је служио за одређивање концентрације цитокина (IL-1 β , IL-6, IL-33, GAL-3), обрађиван је у Центру за молекулску медицину Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу, непосредно након узимања узорка. Узорак крви смо добили стандардним *Vacutainer* системом у стерилне, хепаринизирание, вакууминизирание епрувете, поштујући принципе антисепсе, и у истима транспортован у Центру за молекулску медицину. Крв смо непосредно након узимања центрифугирали, а издвојени серум смо чували на температури од -70°C до дефинитивне анализе. За детекцију наведених цитокина користили смо комерцијалне ELISA китове.

Узорке цервиковагиналног бриса смо транспортовали у одговарајућим стерилним епруветама, непосредно по узимању, и уз одговарајућу пропратницу, упућивали у Лабораторију за микробиолошку анализу, Универзитетског клиничког центра Крагујевац. Узорци су одмах засејавани на хранљиве подлоге.

Постељица са плодовим овојцима је обрађивана у Служби за патоанатомску дијагностику, Универзитетског клиничког центра Крагујевац и Центру за молекулску медицину, Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу.

Целокупна постељица са плодовим овојцима обрађивана је у Служби за патоанатомску дијагностику, Универзитетског клиничког центра Крагујевац и служила је за потврду или одбацивање дијагнозе хориоамнионитиса. Непосредно након порођаја постељица са плодовим овојцима смо одлагали у посебно конструисане пластичне, хемијски чисте посуде испуњене формалином до тренутка достављања у Службу за патохистолошку дијагностику, а унутар 24h од порођаја.

Пре одлагања постељичног диска са плодовим овојцима у формалин, узимали смо са суспектних места постељичног диска (замућења плодових овојака, пребојеност плодових овојака, едем плодових овојака и постељичног ткива, присуство фибропурулентног садржаја) више узорака постељице и плодових овојака у укупној

количини до 2 gr, одлагали у посебно конструисане епруветице (криовајлице) и складиштили на -80°C . Узорке смо по одмрзавању користили за PCR дијагностику (одређивање релативну количина иРНК за IL-1 β , IL-6, IL-33, GAL-3).

ELISA метода и PCR дијагностика обављене су у Центру за молекулску медицину, Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу. У истом центру обављена су и имунохистохемијска испитивања узорака постеличног ткива са плодовим овојцима и детекција специфичних инфламаторних маркера.

3.8. Евалуација биохемијских параметара у серуму

По достављању узорака крви из кубиталне вене испитаница и вене пупчаника, епрувете су центрифугиране 10 минута на 2000 rpm, како би се издвојио серум у коме је одређиван број леукоцита, концентрација CRP-а и фибриногена. Вредности су приказане нумерички. Анализа је спроведена према стандардним методама које је предложила Међународна федерација за клиничку хемију и лабораторијску медицину (*International Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine – IFCC*), а којих се придржава и Служба за лабораторијску дијагностику, Универзитетског клиничког центра Крагујевац.

3.9. Засејавање цервиковагиналног бриса

Цервиковагинални брис транспортован је у микробиолошку лабораторију у периоду не дужем од 15 минута по узимању. Брис је засејан на две чврсте и једну течну хранљиву подлогу. Прва подлога односила се на крвни агар са 5% овчјом крви, а друга на ендо агар (диференцијална подлога). Течну подлогу чинио је тиогликолатни бујон. По наношењу узорка, подлоге су инкубиране у аеробним условима 18-24h, у термостату на температури од 35°C , након чега је спроведени читавање засејаних подлога. Подлоге на којима се нису појављивале патогене културе проглашаване су за негативне, док су подлоге са патогеним културама проглашаване за позитивне, и код њих се спроводила идентификација микроорганизама (једног или више). Код позитивних засејаних подлога, радио се антибиограм, односно испитивање антибиотске осетљивости, на стандардизованој подлози *Mueller hinton* агар диск дифузионом методом по *Eucast*-у. Код негативних засејаних подлога инкубација је била продужена за 24h. Позитивна течна подлога се након визуелизације (замућење) пресејала на крвни и ендо агар, а потом се радила идентификација и антибиограм (до 24h од пресејавања). Након завршеног испитивања резултати су издавани у виду негативног (засејане подлоге су стерилне) или позитивног налаза (име изолованог микроорганизма или микроорганизама са антибиограмом).

3.10. Обрада биолошког материјала

3.10.1. Обрада ткива и припрема за бојење

Целокупна постелица са плодовим овојцима (у даљем тексту ткиво) је непосредно по порођају, фиксирана у 4% формалдехиду са неутралним рН. Количина формалдехида коришћена за фиксацију ткива постелице са плодовим овојцима је варијала у зависности од величине постелице, али је увек поштован принцип да је ткиво било у потпуности заливено фиксативом.

Горе наведени поступак обављао се непосредно након порођаја, у породилишту Клиника за гинекологију и акушерство, Универзитетског клиничког центра у Крагујевцу. Уз адекватну пропратницу, у којој су уписане генералије испитанице, датум порођаја и матични број историје болести, материјал се шаље Служби за патоанатомску дијагностику, Универзитетског клиничког центра у Крагујевцу, где се након провере података, у случају потврде истих, материјал узима на даљу патоанатомску обраду и анализу.

Након макроскопске анализе постелице (посматрање феталне и матерналне стране, присуство комплетних постеличних котиледона, очуваност плодових овојака, место инсерције пупчане врпце, макроскопски видљиве промене постелице попут некрозе децидуе, едема, хематома, калцификата, замућености плодових овојака, присуства фибропурулентног садржаја...) у оквиру стандарне патоанатомске анализе описан је облик постелице, тежина, изглед, мерена дужина и дебљина постеличног диска, проженост меконијумом. Наведени подаци су део стандардне анализе постеличног ткива од стране патолога, а пре узимања суспектних узорака ткива и не представља (осим информативно) део нашег истраживања.

Иницијално је маказама изрезан широки део плодових овојака (од 2 до 3 cm) почевши од тачке руптуре настављајући према рубу постеличног ткива укључујући и мали део истог (уколико је то било могуће из техничких разлога). Такав узорак је заролан са амнионском површином према спољашњој страни и потопљен у фиксатив (4% формалдехиду са неутралним рН) следећа 24h. Преузети рез (дебљине до 3 mm) је обухватао амнион, хорион и децидуу са руба руптуре.

Након претходно описаног поступка приступано је узимању ткива постелице за хистолошку анализу. Скапелом су изрезана четири узорка постеличног диска величине око 2 cm дебљином укључујући феталну површину и интактну матерналну површину, бирајући ткиво постелице (унутар 2 cm од плацентног руба као и место непосредно уз инсерцију пупчане врпце). Комадићи ткива постелице узорковани на овај начин обухватили су постеличне крвне судове пререзане под правим углом. Ткивни исечци су потопљени у фиксатив (4% формалдехиду са неутралним рН) следећа 24h

Помоћу ткивног процесора извршена је даља обрада ткива: дехидратација, испирање и импрегнација. Потом је припремљено ткиво укалупљено у парафинске блокове. За патохистолошку анализу потврде/одбацивања хориоамнионитиса, као и за следствену имунохистохемијску анализу коришћена су узорци ткива дебљине 5 μ m, сечени помоћу ротирајућег микротом (Leica RM2135), на собној температури.

Серијски пресеци ткива дебљине 4-5 μm потапани су у водено купатило на температури од 40⁰С. Добијени пресеци су потом нанешени на предметна стакла (*Superfrost-OT Plus microscope slides*) за микроскопирање.

У оквиру стандарне патохистолошке анализе постеличног ткива и плодних овојака, неизоставно се обавља и анализа пупчане врпце, али она није део нашег испитивања и може бити идеја за неко од следећих истраживања проблематике хориоамнионитиса.

3.10.2. Бојење хематоксилин-еозин хистохемијском техником

Предметна стакла са парафинским исечцима су загрејане у термостату на +56⁰С у трајању од 45 минута. Након тога су изложена краткотрајном спонтаном хлађењу на собној температури, да би потом пакована у посебно конструисане носаче и потапана у ксилол по два пута у трајању по 5 минута. На тај начин је вршена депарафинизација ткива. По завршеном поступку испирања у ксилолу, носачи са предметним стаклима су потапани у опадајуће концентрације етил алкохола: два пута по 5 минута у апсолутном алкохолу, 5 минута у 96% алкохолу, 5 минута у 70% алкохолу, 5 минута у 50% алкохолу, а потом су испирани у дестилованој води 5 минута. На овај начин извршена је рехидратација ткива.

Након претходно наведених испирања извршено је бојење раствором хематоксилина по Mayer-у (*Sigma Aldrich, USA*) у току 10 минута. Предметна стакла су по завршеном бојењу испирани дестилованом водом у трајању од 5 минута, а потом и текућом водом, такође временског трајања од 5 минута. Препарати су затим обојени алкохолним раствором еозина (*Sigma Aldrich, USA*) у трајању од 2 минута.

Претходно припремљена предметна стакла су, у даљем току, излагана процесу дехидратације у растућим концентрацијама етил алкохола: 5 минута у 50% алкохолу, 5 минута у 70% алкохолу, 5 минута у 96% алкохолу, а потом два пута у трајању од по 5 минута у апсолутном алкохолу. По завршеном процесу дехидратације, предметна стакла са ткивом су припремљена за процес просветљавања.

Овај процес извршен је коришћењем два раствора ксилола у трајању од по 5 минута. По обављеном процесу просветљавања, на препарате је нанет медијум за покривање на бази ксилола (*DPX mounting medium - Sigma Aldrich*). Потом су нанета покривна стакла са циљем заштите препарата водећи рачуна да у простору између плочице и покровног стакла нема заробљеног ваздуха. Свакој плочици је додељен одговарајући број. Предметна стакла са ткивним узорцима и нанетим покровним стаклима сушена су на собној температури током 24 часа. За анализу обојених препарата коришћен је светлосни микроскоп (*Olympus BX51, Japan*), а фотомикрографије регије од значаја за наше истраживање начињене су дигиталним фотоапаратом, након чега је вршена и детаљна анализа.

3.10.3. Имунохистохемија

Имунохистохемијска анализа парафинских исечака извршена је на уобичајан начин према протоколу и смерницама из упутства произвођача, а у зависности од врсте интерлеукина или инфламозома. Предметна стакла са парафинским исечцима су загрејана у термостату на $+56^{\circ}\text{C}$ у трајању од 45 минута, а након спонтаног хлађења на собној температури приступано је процесу депарафинизације и рехидратације ткива.

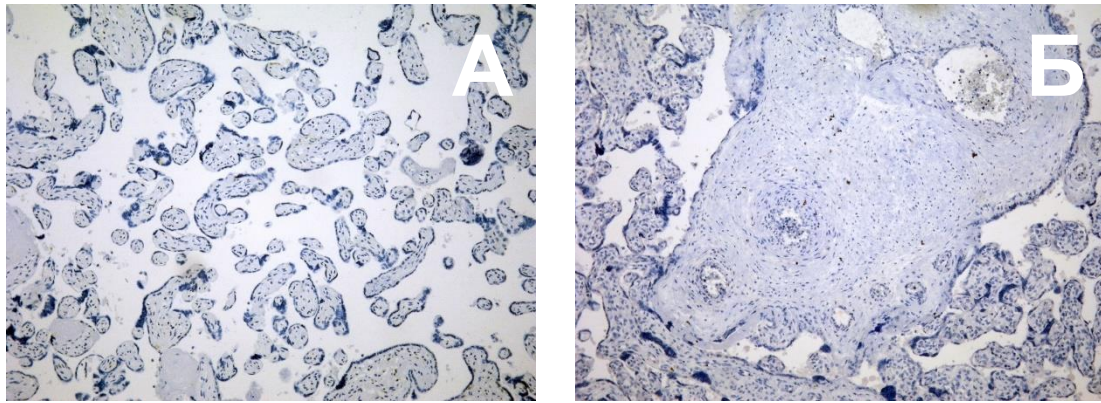
Депарафинизација ткивних исечака изведена је потапањем носача са предметним стаклима у раствору ксилола, а у трајању два пута по 5 минута. Потом су предметна стакла потапана у опадајуће концентрације етил алкохола на следећи начин: два пута по 5 минута у апсолутном алкохолу, 5 минута у 96% алкохолу, 5 минута у 70% алкохолу, 5 минута у 50% алкохолу, а потом су испирани у дестилованој води у трајању од 5 минута. Након испирања у дестилованој води, предметна стакла су обрисана тако да су само исечци ткива остали влажни.

Кивете са предметним стаклима на којима су депарафинизовани и рехидрисани ткивни исечци потапани су у посуду са цитратним пуфером који је претходно загрејан на собној температури рН вредности 6.0, а у укупној количини од 1500 ml. Посуда са цитратним пуфером и киветама у којима су предметна стакла загревана је у микроталасној пећници на 800W у трајању од 21 минута.

По завршеном претходном поступку, кивете са предметним стаклима су извађене из загрејаног цитратног пуфера и хлађене на собној температури 20 минута, након чега смо приступали екстензивном испирању предметних стакала са ткивним узорцима. Овај поступак подразумева испирање у дестилованој води два пута по 5 минута, а потом у раствору PBS-а (*Phosphate Buffered Saline*) рН вредности 7.2, три пута по 10 минута. Након испирања у раствору PBS-а, предметна стакла су обрисана тако да су само исечци ткива остали влажни.

Предметна стакла са ткивним исечцима су потапана у расхлађени ацетон у трајању од 5 минута, да би након тога поново следило испирање у раствору PBS-а и то три пута по 5 минута. Затим је на ткивне исечке нанета кап *Hydrogen Peroxide Block*-а како би се блокирала активност ендогене пероксидазе током инкубације од 10 минута на собној температури. Испирање у раствору PBS-а, два пута по 5 минута, је био последњи поступак до наношења *Protein block*-а.

Наношење комерцијалног протеинског блока (HRP/AEC and HRP/DAB kits (Abcam, Cambridge, UK) уз икубацију од 5 минута на собној температури, спречавало је неспецифично везивање. Предметна стакла су испирани у раствору PBS-а у трајању од 5 минута. Даљи поступак се односио на наношење одговарајућег примарног антитела (у зависности од врсте цитокина или инфламозома) и инкубацију у влажној комори током ноћи. За негативне контроле рађен је идентичан протокол, али је примарно антитело изостављено (слика 3.1.).



Слика 3.1. Приказ контроле негативног бојења постеличног ткива (увећање 100×) HRP/DAB (А) и HRP/AEC (Б) комплет

Примарна антитела коришћена у поступку имунохистихемије су:

- за IL-1 β - Rabbit polyclonal antibody to IL 1 β , ab9722 (Abcam),
- за IL-6 - Rabbit polyclonal antibody to IL 6, ab6672 (Abcam),
- за IL-33 - Mouse anti-IL33 antibody [Nessy-1] (Biotin) ab54384 (Abcam),
- за GAL-3 - Rabbit polyclonal antibody to Galectin 3, ab53082 (Abcam).

Следећег дана је са предметних стакала са ткивним исечцима одливен вишак антитела, а потом су препарати опрани три пута по 5 минута у раствору PBS-а. Предметна стакла су затим обрисана, али су ткивни исечци остали влажни. На исечке је нането одговарајуће секундарно антитело уз инкубацију од 45 минута на собној температури, а након тога *Streptavidin Horseradish Peroxidase* уз инкубацију од 30 минута у влажној комори.

По испирању предметних стакала у раствору PBS-а, три пута по 5 минута, на исечке је нането 100 μ l раствора DAB или AEC реагенса HRP/AEC и HRP/DAB kits (Abcam, Cambridge, UK) добијеног тако што је 50 μ l *DAB Chromagen*-а разблажено у 1 ml одговарајућег пуфера. По добијеном жељеном интензитету боје (анализирањем развијања реакције под микроскопом) предметна стакла са ткивним исечцима су поново испирани у раствору PBS-а у три пута, утрајају од по 5 минута, чиме је прекидана горе наведена реакција ткивних исечака и DAB или AEC реагенса.

Након испирања дестилованом водом у трајању од 5 минута, ткивни исечци су бојени хематоксилином по *Mayer*-у и инкубирани 2 минута како би се добио жељени интензитет боје. Препарати су затим интензивно опрани текућом водом, а потом обрисани тако да ткивни исечци остану влажни.

На ткивне исечке нанета је кап глицерола, која је разливена по њима, а потом је спуштена покровна луспица (покровно стакло) водећи рачуна да у простору између плочице и покровног стакла нема заробљеног ваздуха. Свакој плочици је додељен одговарајући број. Тако припремљени препарати чувани су на собној температури до микроскопске анализе истих. За анализу обојених препарата коришћен је светлосни микроскоп (*Olympus BX51, Japan*). Препарати су посматрани на увећању 100X и 400X. Фотографије регије од значаја за наше истраживање начињене су дигиталним фотоапаратом, након чега је вршена и детаљна анализа.

3.10.3.1. Имунохистохемијско скорирање

Скорирање интензитета и процента имунохистохемијског бојења процењивала су три независна истраживача и концензусом су одлучили проценити ћелије које су обојене. Интензитет бојења је понаособ скориран за плодове овојке, децидуу и хорионске ресице, те скориран на следећи начин:

- 0 – нереактивност (нису обојене, неадекватно обојене),
- 1 – присутно слабо бојење,
- 2 – присутно умерено бојење,
- 3 – присутно јако бојење.

Процент обојених ћелија је такође понаособ скориран за плодове овојке, децидуу и хорионске ресице оцењен на следећи начин:

- 0 – нема позитивних ћелија,
- 1 – ретке и изоловане позитивне ћелије,
- 2 – <50% позитивних ћелија,
- 3 – \geq 50% позитивних ћелија.

Два резултата (интензитет и проценат) су помножена да би се добио коначан резултат који је између 0 и 9 (418). Узорци су сматрани позитивнима када је коначан резултат био >2. Слајдови су анализирани коришћењем светлосног микроскопа (*Olympus BX51 microscope*), а дигиталне слике су добијене коришћењем дигиталне камере (*Olympus digital camera - DP71*).

3.10.4. ELISA (Enzyme-Linken Immunosorbent Assay)

3.10.4.1. Мерење серумске концентрације IL-1 β , IL-6, IL-33, GAL-3

Мерење серумске концентрације IL-1 β , IL-6, IL-33, GAL-3 у узорку из кубиталне вене мајке и из вене пупчаника обављено је помоћу ELISA теста.

Узорак крви (5 ml) из кубиталне вене код испитаница узимали смо при минималној дилатацији грлића материце од 7 cm (порођај наступао најдуже у наредна три часа од момента узимања крви), стандардним *Vacutainer* системом у стерилне, хепаринизирани, вакууминизирани епрувете, поштујући принципе антисепсе.

Узорак крви из пупчане вене (5 ml) узимали смо у првом минуту након клемовања пупчане врпце стерилним клемима, стандардним *Vacutainer* системом у стерилне, хепаринизирани, вакууминизирани епрувете, поштујући принципе антисепсе.

Оба узорка крви смо затим центрифугирали 10 минута на 300G, како би се издвојио серум. По издвајању серума, извршили смо пипетирање и издвајање узорка серума, те депоновање у адекватно обележене епендорфице, које смо одложили у замрзивач, на -70°C до коначног извођења анализе, а по прикупљању свих предвиђених узорака.

Након прикупљања свих предвиђених узорака, извршили смо одмрзавање серума како би га припремили за одређивање концентрације цитокина IL-1 β , IL-6, IL-33, GAL-3. Коришћени су комерцијални ELISA китови специфични за хумане цитокине и то:

- За IL-1 β - Human IL-1 β ELISA Kit, Fine Test; EH0185,
- За IL-6 - Human IL-6 ELISA Kit, Fine Test; EH0201,
- За IL-33 - Human IL-33 ELISA Kit, Fine Test; EH0198,
- За GAL-3 - Human GAL-3 ELISA Kit, Fine Test; EH0145.

ELISA комплет користи принцип сендвич - ELISA. Микро ELISA плоча са 96 бунарчића која се налази у овом комплекту је претходно обложена антителим специфичним за одговарајући хумани цитокин (IL-1 β , IL-6, IL-33, GAL-3). Узорци (или стандарди) су додавани у бунарчиће микро ELISA плоче и комбиновани су са специфичним антителим. Затим су биотин детекционо антителим специфично за одговарајући хумани цитокин и коњугована *Avidin-Horseradish* пероксидаза - додавани сукцесивно у сваки бунар микро плоче, након чега је уследила инкубација. Након инкубације микро плоче су испиране, како би се ослободиле слободних компоненти. Раствор супстрата је додаван у сваки бунарчић и само они бунарчићи који садрже примарно антителим специфично за одговарајући цитокин, биотин детекционо антителим и коњугована *Avidin-Horseradish* пероксидазу су се пребојили плавом бојом. Реакција ензим-супстрат је прекинута додавањем стоп раствора, након чега је боја постала жута. Оптичка густина (ОД) је мерена спектрофотометријски на таласној дужини од 450 nm \pm 2 nm. ОД вредност је пропорционална концентрацији одговарајућег цитокина. Концентрацију одговарајућег хуманог цитокина је израчуната у узорцима упоређивањем ОД узорака са стандардном кривом. Коефицијенти варијације су за сваки од наведених цитокина износили мање од 10%. Вредности за IL-1 β , IL-6 и IL-33 су изражене у pg/ml, док су вредности за GAL-3 изражене у ng/ml.

3.10.5. PCR (Polymerase Chain Reaction)

3.10.5.1. Изолација рибонуклеинске киселине из хомогената постелејичног ткива

Изолација рибонуклеинске киселине - РНК (*ribonucleic acid - RNA*) из хомогената постелејичног ткива (плодових овојака и хорионских ресица) вршена је помоћу тризол (*TRIzol™*) реагенса који је садржи гуанидин тиоцијанат и раствор фенола. Након изолације, постелејично ткиво димензије 2x2 mm је механички хомогенизовано ручним хомогенизатором са 1 ml тризног реагенса. Епендорфице запремине 1.5 ml испуњене хомогенатом, након механичке хомогенизације додато им је 100 µl бромхлорпропана (*1-bromo-3-chloropropane, BCP*), вортексоване су и инкубиране 5 минута на собној температури, а потом центрифугиране на 12000 rpm, 10 минута на +4°C. Формирана су три слоја, а у горњем слоју се налазио РНК.

РНК је пребачена у епрувете којима се додаје расхлађен изопропил алкохол у количини од 500 µl ради преципитације РНК, врши се њихово мешање и инкубација на собној температури 15 минута, да би се након тога приступило поновном центрифугирању у трајању од 8 минута на 12000 rpm на +4°C. Формиран талог након центрифугирања је потом опран два пута са расхлађеним 70% етил алкохолом у количини од 1 ml, сушен 5 минута на собној температури, а онда разблажен у води која не садржи нуклеазе (*Nuclease free water*). Спектрофотометријским мерењем апсорбанце на 260/280 nm одређена је концентрација и пречишћеност РНК. За ову анализу коришћен је апарат *Eppendorf® Biophotometer (Eppendorf, Hamburg, Germany)*.

3.10.5.2. Реверзна транскрипција РНК

То је поступак у коме се једноланчана РНК преписује у комплементарну ДНК, а који се у нашем истраживању изводио помоћу *High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit-a*, а према упутству произвођача. Поступак се изводио на следећи начин: узорак у количини од 10 µl, а који садржи 2 µg укупне РНК изоловане из хомогената постелејичног ткива, инкубира се са 10 µl главне мешавине / *Master mix* (2 µl пуфера, 0.8 µl dDNA Mix, 2 µl Random Hexamer Primer, 1 µl Multi Scribe™ Reverse Transcriptase, 3.2 µl Nuclease free water). Приступа се мешању наведене смеше, инкубацији на 25°C у трајању од 10 минута, а потом поновној инкубацији, сада на 37°C у трајању од 120 минута. Реакција се зауставља грејањем на 85°C, у трајању од 5 минута. Узорци се потом хладе на +4°C (*Mastercycler® ep realplex, Eppendorf, Hamburg, Germany*). Цео процес се изводи на леду, а добијена комплементарна ДНК коришћена је за квантификацију експресије гена.

3.10.5.3. Квантификација експресије гена

Мерење експресије гена вршено је методом квантитативне ланчане реакције полимеразе (*Polymerase Chain Reaction*) у реалном времену (*Quantitative Real Time PCR, qRT-PCR*). Реакција је изведена у *Mastercycler® ep realplex* апарату, коришћењем микротитар плоча са 96 места. Реакциона смеша садржала је 1 µl узорка комплементарне ДНК, главну мешавину / *Master mix*, смешу парова прајмера (*forward/reverse*) за жељени ген и *Nuclease free water*, и то у укупној запремини реакционе смеше од 10 µl по комори. На микротитар плоче је прелепљена оптичка адхезивна фолија (*Masterclear Real Time PCR film, Eppendorf*), а потом извршено центрифугирање 1 минут на 3000 rpm. Плоче су након центрифугирања смештене у qRT-PCR апарат где се изводи реакција на основу температурне шеме: 4 минута на 95°C, затим 50 циклуса од по 15 секунди на 95°C, а

потом 1 минут на 62⁰С. Специфичност PCR продуката се одређивала у подешеним условима за извођење криве топљења (*Melting Curve*): 15 секунди на 95⁰С, 15 секунди на 60⁰С, 20 минута температурног раста и потом на 95⁰С.

интерлеукин	forward	reverse
IL-1β	ACAGATGAAGTGCTCCTTCCA	GTCGGAGATTCGTAGCTGGAT
IL-6	CCAGCTATGAACTCCTTCTC	GCTTGTCCTCACATCTCTC
IL-33	ACAGAATACTGAAAAATGAAGCC	CTTCTCCAGTGGTAGCATTTG
GAL-3	CCATCTTCTGGACAGCCAAGTG	TATCAGCATGCGAGGCACCACT

Табела 3.3. Прајмери испитиваних цитокина

3.11. Статистичка обрада података

Подаци добијени у овом истраживању су анализирани у комерцијалном статистичком програму SPSS 20.0 software (*IBM corporation, Armonk, NY, USA*). Резултати су приказани као средња вредност и статистичка грешка средње вредности (SEM). Нормалност расподеле је одређена тестом *Kolmogorov-Smirnov*. За анализу резултата коришћена *ANOVA* или *Student's t-test* за независне варијабле, ако су имале нормалну расподелу и *Kruskal-Vallis* или *Mann-Whitney U test*, ако нису имале нормалну расподелу. χ^2 тест коришћен је за категоријске варијабле. Спирманов коефицијент корелације је коришћен за процену односа између изабраних варијабли. Јачина корелације је дефинисана као негативна или позитивна и то: слаба (-0,3 до -0,1 или 0,1 до 0,3), умерена (-0,5 до -0,3 или 0,3 до 0,5) или јака (-1,0 до -0,5 или 1,0 до 0,5). Статистички значајном разликом су сматране вредности $p < 0,05$. Графикони и табеле су креирани у *Microsoft Excel*-у.

4. РЕЗУЛТАТИ

4.1. Опште карактеристике испитаница

4.1.1. Подела испитаница према времену наступања порођаја

У овом истраживању учествовало је 62 испитанице које су подељене у две групе – експерименталну и контролну. Прву групу (експериментална група - Е) чинило је 40 трудница са претерминским порођајем (који је наступио од 25.0 до 36.6 недеље трудноће), рачунајући време од првог дана последње менструације. Другу групу (контролна група - К) чиниле су 22 труднице са терминским порођајем (који је наступио од 37.0 до 41.6 недеље трудноће), такође рачунајући време од првог дана последње менструације. Све труднице су порођене вагиналним путем, са или без начињене епизиотомије.

4.1.2. Подела испитаница на основу хистолошке анализе постеличног ткива

Хистопатолошком анализом постеличног ткива (децидуа, хорионске чупице и плодови овојци) извршена је подела на препарате са хориоамнионитисом и без хориоамнионитиса. Сви случајеви хистолошки доказаног хориоамнионитиса припадали су категорији претерминског порођаја, док су сви случајеви хистолошки непотврђеног хориоамнионитиса припадали категорији терминског порођаја. На овај начин униформисане су групе:

- Експериментална група са претерминским порођајем и хистолошки потврђеним хориоамнионитисом (n=40),
- Контролна група са терминским порођајем и хистолошки одбаченим хориоамнионитисом (n=22).

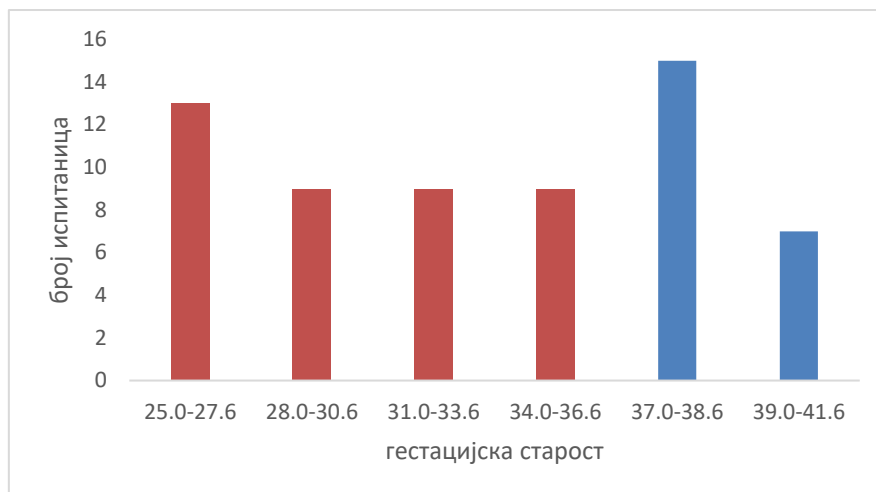
4.1.3. Подела испитаница на основу гестацијске старости

Експерименталну групу са претерминским порођајем чинило је 40 испитаница које су из дидактичких разлога подељене у четири подгрупе, на основу дужине трајања гестације (трудноће), узевши у обзир период од 25.0 до 36.6 недеље трудноће. Оваква подела је коришћена у одређеним испитивањима, како би се пронашла евентуална веза између испитиваних параметара и гестацијске старости. Наведене групе су:

- изузетно рани претермински порођај (25.0 – 27.6 нг) (n=13),
- веома рани претермински порођај (28.0 – 30.6 нг) (n=9),
- умерено рани претермински порођај (31.0 – 33.6 нг) (n=9),
- касни претермински порођај (34.0 – 36.6 нг) (n=9).

Контролну групу са терминским порођајем чинило је 22 испитаница које су из дидактичких разлога подељене у две подгрупе, на основу дужине трајања гестације (трудноће), узевши у обзир период од 37.0 до 41.6 недеље трудноће. Оваква подела је коришћена у одређеним испитивањима, како би се пронашла евентуална веза између испитиваних параметара и гестацијске старости. Наведене групе су:

- рани термински порођај (37.0 – 38.6 нг) (n=15),
- касни термински порођај (39.0 – 41.6 нг) (n=7).



Графикон 4.1. Подела испитаница на основу гестациске старости. Експериментална група (претермински порођај) обележена је црвеном бојом, а контролна група (термински порођај) плавом бојом

	експериментална група	контролна група
гестациска старост	30.20 ± 3.84	38.95 ± 1.53 **

Табела 4.1. Гестациска старост испитаница у експерименталној и контролној групи. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) ± стандардна девијација (СД). ** означава статистичку значајност ($p < 0.01$) у односу на експерименталну групу

Анализом података које приказују просечну гестациску старост, показано је да је у експерименталној групи била значајно мања гестациска старост него у контролној групи. Просечна гестациска старост испитаница у експерименталној групи била је 30.20 ± 3.84 недеља гестације, наспрам 38.95 ± 1.53 недеља гестације у контролној групи.

4.1.4. Подела испитаница према годинама живота

Просечна старост испитаница у (кумулативно у обе групе) овој студији износи 30.69 година. Најмлађа испитаница је имала 17 година, а најстарија 50 година.

Просечна старост испитаница у контролној групи ове студије износила је 32.55 година, при чему је најмања испитаница имала 17 година, а најстарија 42. године.

Групи раног терминског порођаја (37.0 – 38.6 нг) припадала је најмлађа испитаница са 17 година, док је најстарија имала 39 године. Просечна старост испитаница у овој групи износила је 31.47 година.

Просечна старост испитаница код касног терминског порођаја (39.0 – 41.6 нг) износила је 34.86 године, при чему је најстарија испитаница у групи имала 42 године, а најмлађа испитаница 27 година.

Просечна старост испитаница у експерименталној групи ове студије износила је 29.68 година, при чему је најмања испитаница имала 19 година, а најстарија 50 године.

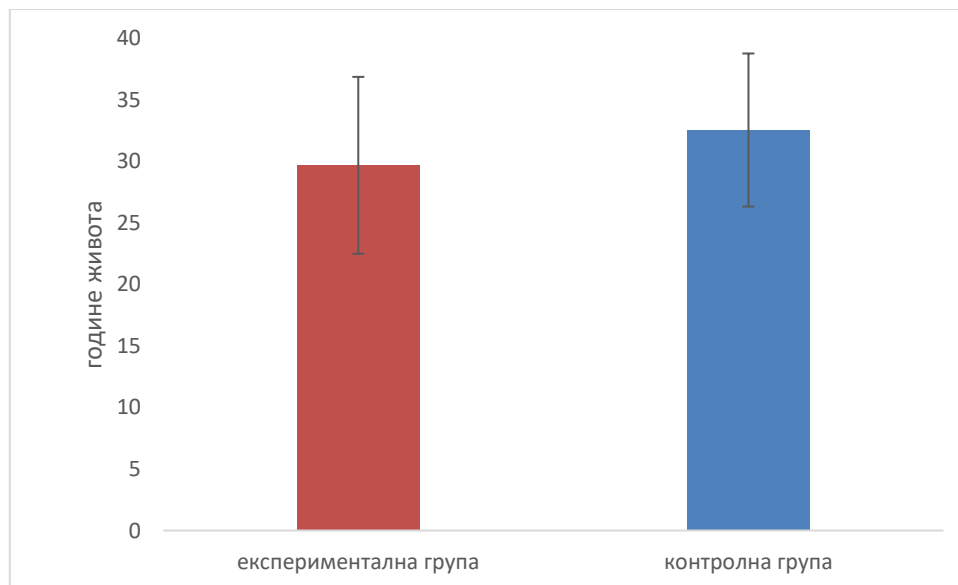
Просечна старост испитаница у експерименталној групи код изузетно раног претерминског порођаја (25.0 – 27.6 нг) износила је 31.54 година, при чему је овој категорији припадала најстарија испитаница у групи (50 година), док је најмлађа испитаница имала 21. годину.

Код веома раног претерминског порођаја (28.0 – 30.6 нг) најмлађа испитаница је имала 19 година, а најстарија 42 године. Просечна старост испитаница у овој групи износила је 29.89 година.

Умерено рани претермински порођај (31.0 – 33.6 нг) се одликује просечном старошћу испитаница од 27.56 година, најмлађа испитаница има 20 година, док најстарија испитаница има 36 година.

Просечна старост испитаница код касног претерминског порођаја (34.0 – 36.6 нг) износила је 28.89 година, при чему најстарија испитаница у групи има 35 година, док је најмлађа испитаница имала 23 година.

Између контролне и експерименталне групе није постојала статистички значајна разлика ($p > 0.05$).

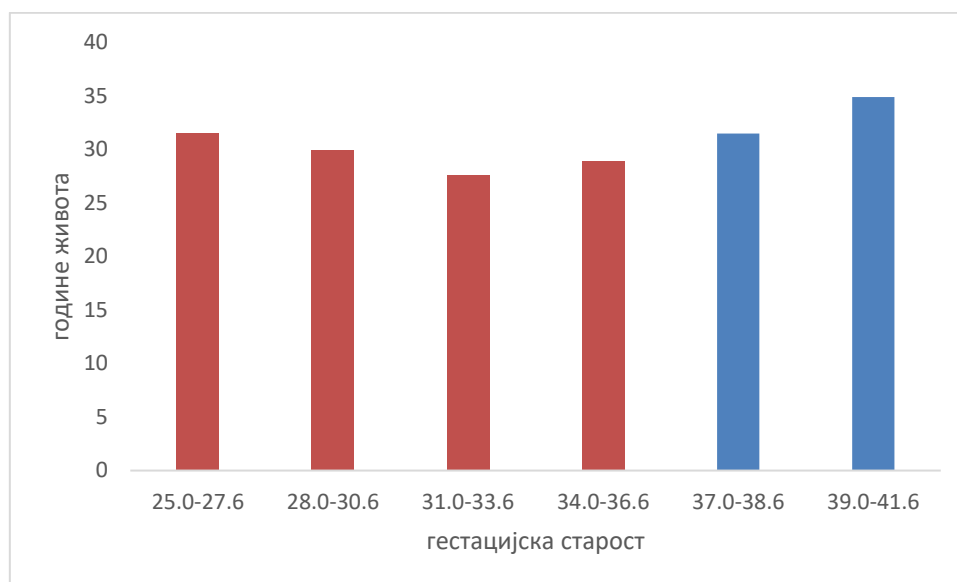


Графикон 4.2. Подела испитаница у експерименталној и контролној групи на основу година живота. Вредности су представљене као средња вредност ± стандардна девијација (СД)

	експериментална група	контролна група
године живота	29.68 ± 7.19	32.55 ± 6.22

Табела 4.2. Просечне године живота испитаница у експерименталној и контролној групи. Вредности су изражене као средња вредност ± стандардна девијација (СД).

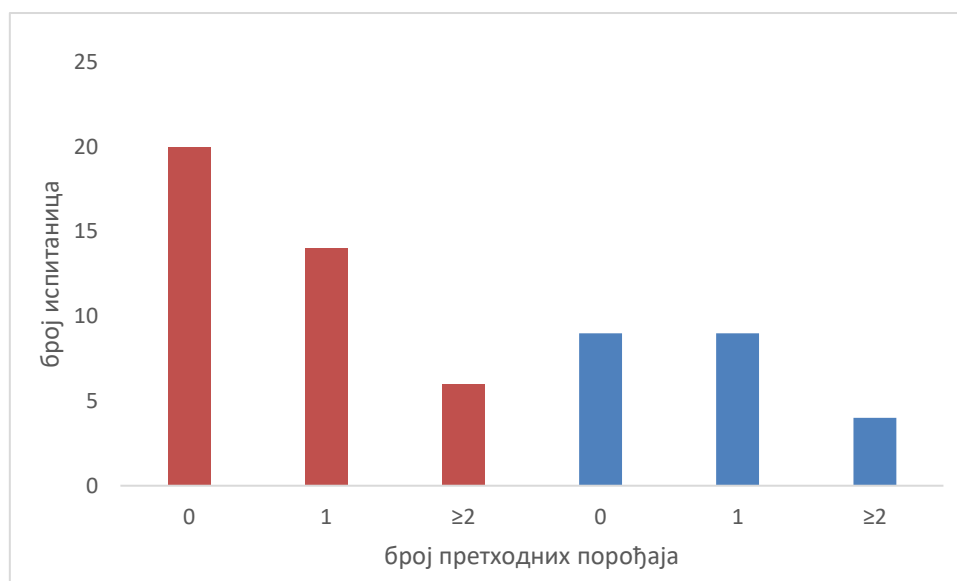
Није било статистички значајне разлика између експерименталне и контролне групе када је реч о годинама живота испитаница. Просечна старост испитаница у експерименталној групи била је 29.68 ± 7.19 година, наспрам 32.55 ± 6.22 у контролној групи.



Графикон 4.3. Просечна старост година живота испитаница према гестациској старости. Вредности су представљене као средња вредност ± стандардна девијација (СД). Експериментална група (претермински порођај) обележена је црвеном бојом, а контролна група (термински порођај) плавом бојом

4.1.5. Подела испитаница на основу укупног броја претходних порођаја

У студији је учествовало (кумулативно у обе групе) 29 прворотки, 23 другоротке и 10 вишеротки (са два и више порођаја). Експерименталну групу чинило је 20 прворотки, 14 другоротки и 6 вишеротки, док је контролну групу чинило 9 прворотки, 9 другоротки и 4 вишеротки (са два и више порођаја).



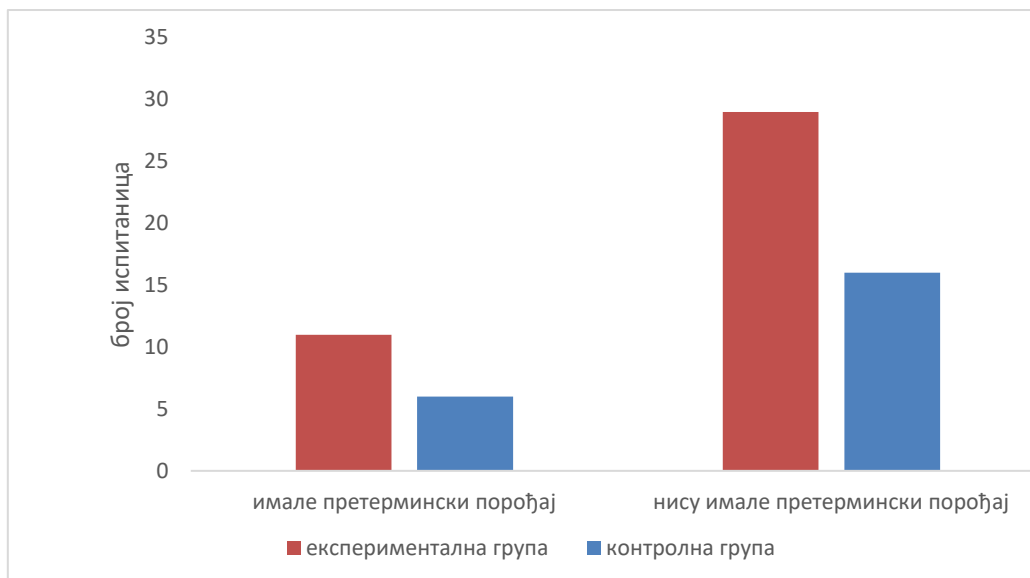
Графикон 4.4. Апсолутни број испитаница према броју претходних порођаја. 0 – није било порођаја (прворотка), 1 – један претходни порођај (другоротка) и ≥ 2 – два или више претходних порођаја (вишеротка). Експериментална група (претермински порођај) обележена је црвеном бојом, а контролна група (термински порођај) плавом бојом

	експериментална група	контролна група
број порођаја	1.77 ± 0.75	1.65 ± 0.74

Табела 4.3. Просечан број претходних порођаја код испитаница у експерименталној и контролној групи. Вредности су изражене као средња вредност \pm стандардна девијација (СД)

4.1.6. Подела испитаница на основу броја претходних претерминских порођаја

Од 62 испитанице из студије, 17 испитаница имало је у репродуктивној анамнези бар један претермински порођај, док 45 испитаница није имало. У експерименталној групи 11 испитаница даје анамнестички податак да су имале претермински порођај, док 29 испитаница демантује. У контролној групи 6 испитаница је имало претермински порођај, а 16 није.



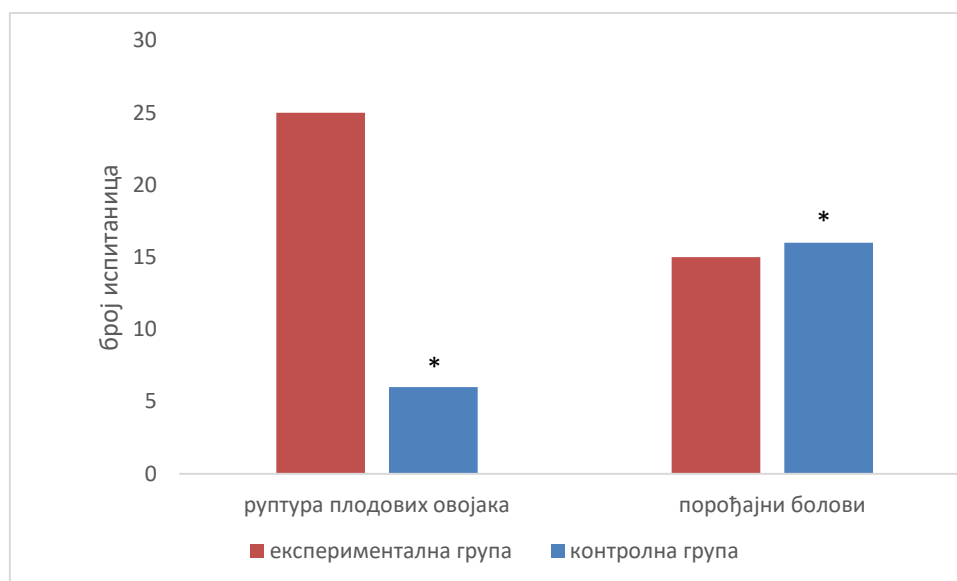
Графикон 4.5. Повезаност претходних претерминских порођаја у експерименталној групи (претермински порођај) и контролној групи (термински порођај)

Анализом таблица контингенције (χ^2 тест) показано је да не постоји повезаност између варијабле претходни претермински порођај и варијабле група (експериментална-претермински порођај и контролна-термински порођај); вредност Chi-square=0.000, $p=0.985$ (слика горе). У групи која је имала претходне претерминске порођаје у историји 64.7% испитаница припада експерименталној групи, док је 35.3% испитаница који припадају контролној групи. У групи која није имала претходне претерминске порођаје у историји 64.4% је из групе претерминских порођаја, а 35.6% испитаница су из групе терминских порођаја.

4.1.7. Подела испитаница на основу иницијалног знака/симптома покретања порођаја

Иако су све испитанице у студији имале у тренутку пријема у породилиште Bishop скор ≥ 7 , анализиран је иницијални чинилац (симптом или знак) започетог порођаја. Као симптом руптура плодових овојака (PPROM/PROM), а као знак појава порођајних болова (материчне контракције, интензитета минимум 60 mmHg, које трају 60-90 секунди и то најмање три у десетоминутном кардиотокографском запису – CTG).

Руптура плодових овојака је доминирала у експерименталној групи, док су порођајни болови одликовали контролну групу. PPRом се десио код 25 испитаница, док су се порођајни болови иницијално јавили код 15 испитаница које су се породиле пре очекиваног термина. У контролној групи 16 испитаница је као иницијални симптом имала порођајне болове, а PROM се јавио у 6 случајева.

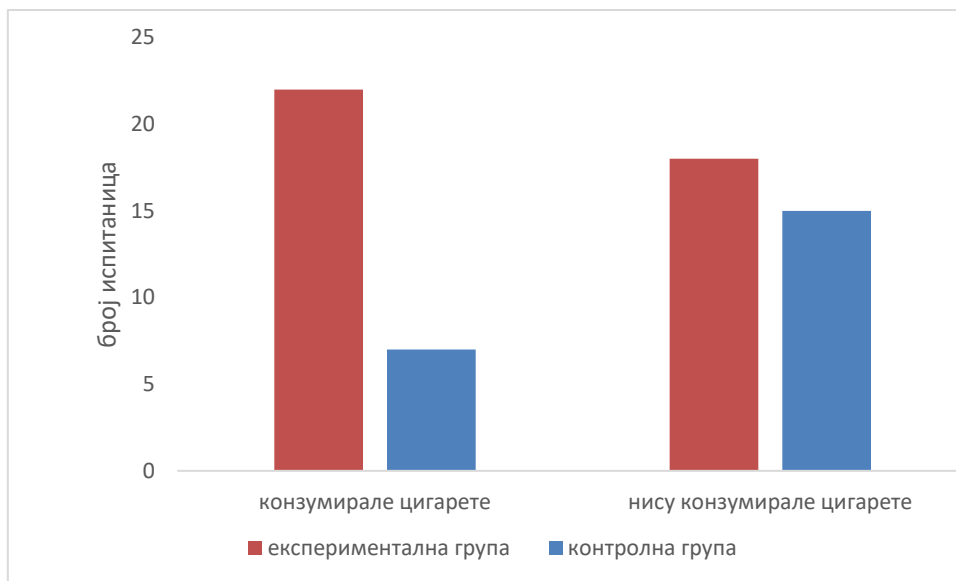


Графикон 4.6. Повезаност иницијалног симптома/знака покретања порођаја у експерименталној групи (претермински порођај) и контролној групи (термински порођај). * означава статистички значајну разлику према експерименталној групи

Анализом таблица контингенције (χ^2 тест) показано је да постоји повезаност између варијабле иницијални симптом/знак покретања порођаја и варијабле група (експериментална-претермински порођај и контролна-термински порођај); вредност Chi-square=7.045, $p=0.008$ (слика горе). У групи која је имала руптуру плодвих овојака 80.6% испитаница припада експерименталној групи, што је значајно више од 19.4% испитаница који припадају контролној групи. У групи која је имала порођајне болове као иницијални симптом покретања порођаја 48.4% је из групе претерминских порођаја што је мање од 51.6% испитаница који су из групе терминских порођаја.

4.1.8. Подела испитаница на основу животних навика

Анализирана је конзумација алкохола, наркотика и цигарета код испитаница које су учествовале у овој студији, у обе испитиване групе. У току трудноће наркотике и алкохол није конзумирала ни једна испитаница. Цигарете су конзумирале 29 трудница и то 22 из експерименталне групе и 7 из контролне групе. Број цигарета које су испитанице конзумирале кретао се од 5 до 20 на дневном нивоу.



Графикон 4.7. Повезаност конзумације цигарета у експерименталној групи (претермински порођај) и контролној групи (термински порођај)

Анализом таблица контигенције (χ^2 тест) показано је да не постоји повезаност између варијабле конзумација цигарета и варијабле група (експериментална-претермински порођај и контролна-термински порођај); вредност Chi-square=3.064, $p=0.08$ (слика горе). У групи која је конзумирала цигарете 75.9% испитаница припада експерименталној групи, док 24.1% испитаница припадају контролној групи. У групи која је није конзумирала цигарете 54.5% је из групе претерминских порођаја, 45.5% испитаница су из групе терминских порођаја.

4.2. Карактеристике патохистолошких препарата

Акутни хориоамнионитис (*chorioamnionitis acuta*) одликује се неутрофилном инфилтрацијом унутар плодових овојака. Неутрофили су у почетку мајчиног порекла, али при напредовању инфламаторног процеса доминирају фетални неутрофили. Стадијум инфилтрације се одређује на основу опсега захваћености плодових овојака, Иницијално, неутрофили врше инфилтрацију децидуалног, односно хорионског слоја плодових овојака, као и слободног руба плодових овојака, док се у ткиву постелице налазе испод хорионске плоче. Потом се врши комплетна инфилтрација, тј. инфилтрација читаве дебљине плодових овојака, да би последњи стадијум чинио и присуство поља некрозе ($\geq 25\%$). Степен инфламације одређен је обилношћу упалног инфилтрата, тако да први степен чини слабу до умерену инфилтрацију неутрофилима, док други стадијум чини обилан и/или конфлуентан инфилтрат (5).

Хроничи хориоамнионитис (*chorioamnionitis chronica*) одликује се лимфоцитном инфилтрацијом унутар плодових овојака. Обично је удружен са налазом вилитиса непознате етиологије. Изузетно је редак у таквој форми и чини око 1% хориоамнионитиса.

Макроскопски карактеристична места за потенцијални хориоамнионитис представљају мутне, мање или више едематозне, непрозирне плодове овојке са могућим жућкастим или жућкастозеленастим инфилтратом. Управо су нам ови критеријуми били водичи за узимање узорака ткива за ИНН и PCR.

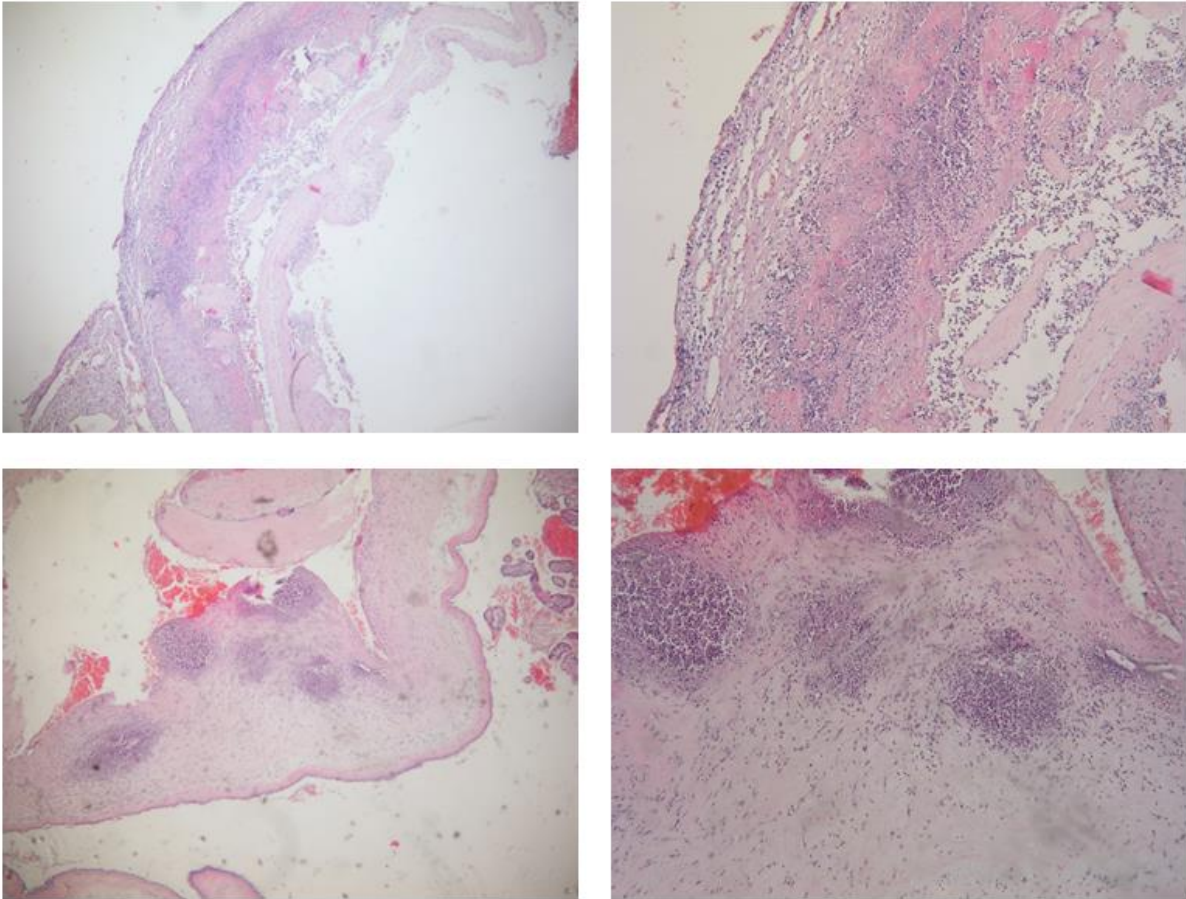
Акутни вилитис (*villitis acuta*) је обично иницијалан инфламаторни процес који ретко захвата и плодове овојке, тако да је углавном фокалног порекла. Одликује се неутрофилном инфилтрацијом строме ресице и интервилозних простора. Хронични вилитис (*villitis chronica*) је ретка форма вилитиса, која се одликује лимфоцитном инфилтрацијом строме ресице и интервилозних простора.

Стадирање инфилтрације вилитиса се врши на основу места инфилтрације:

- захваћеност строме ресица, без знакова некрозе,
- захваћеност строме ресица са знацима некрозе,
- стварање гранулома,
- уз стварање гранулома присутна пролиферација фибробласта,
- ресице су везивно измењене (419).

Не постоје специфичне макроскопске карактеристике вилитиса, те су добијени патохистолошки налази тумачени у складу потраге за хориоамнионитисом. У овој студији оне представљају узгредан налаз, тумачен у оквиру имунохистохемијских анализа ткивних пресека суспектних на хориоамнионитис.

Наше истраживање базирало се искључиво на потврди или одбацивању хориоамнионитиса, након анализе патохистолошких препарата постелице и плодових овојака.



Слика 4.1. Изглед патолошког препарата са верификованим хориоамнионитисом у плодовим овојцима и ткиву постељице (увећање 40× и 100×)

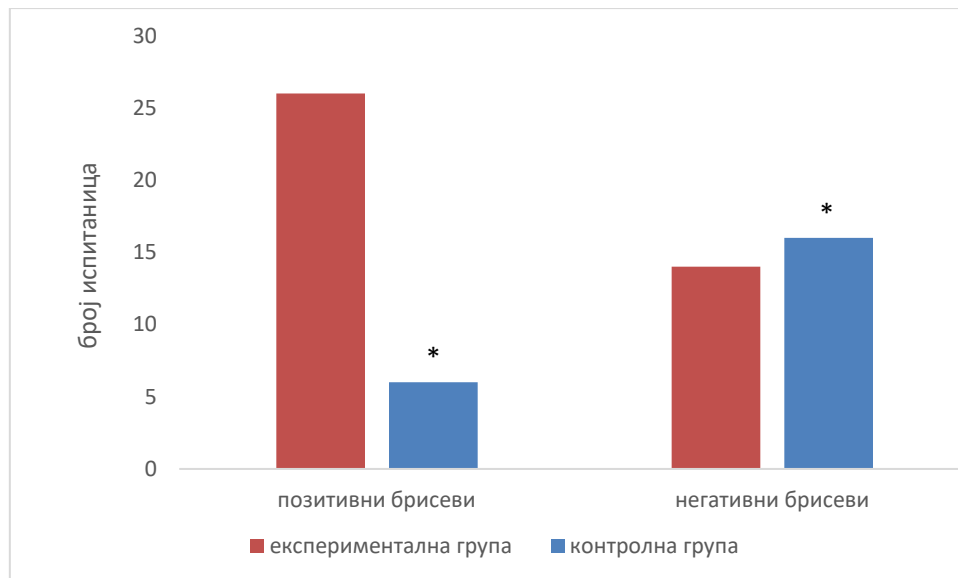
Запажа се комплетна неутрофилна инфилтрација хорионског слоја слободног руба плозових овојака на увећању од 40× (слика горе лево) и увећању од 100× (слика горе десно). Визуелизују се и поља некрозе амнионског епитела. Уочавају се и локализована поља инфилтрације неутрофила у хориону (посебно изражена на слици доле лево), као и присутне инфламације око крвних судова (увећање од 100× на слици доле десно).

4.3. Микробиолошке карактеристике

4.3.1. Повезаност микробиолошке анализе цервикавагиналног бриса у експерименталној групи и контролној групи

Микробиолошком анализом цервикавагиналног бриса, утврђено је присуство микроорганизама код 32 испитанице, док је 30 испитаница имало стерилне брисеве. У експерименталној групи (претермински порођај са хистолошки доказаним хориоамнионитисом) позитивни брисеви су присутни код 26 испитаница, док је контролна група (термински порођај са хистолошки одбаченим хориоамнионитисом) имала позитивне брисеве код 6 испитаница.

Позитивни резултати анализе цервикавагиналног бриса односили су се на моно и полимикробну флору, као и на резултате истовременог присуства бактеријских микроорганизама и гљивица. Полимикробна бактеријска флора присутна је у 12 случајева. Гљивична инфекција (*Candida sp.*) изолована је у 9 случајева. Процентуална заступљеност врсте микроорганизама приказана је у табели 4.4.



Графикон 4.8. Повезаност микробиолошке анализе цервикавагиналног бриса у експерименталној групи (претермински порођај са хориоамнионитисом) и контролној групи (термински порођај без хориоамнионитиса). * означава статистички значајну разлику према експерименталној групи

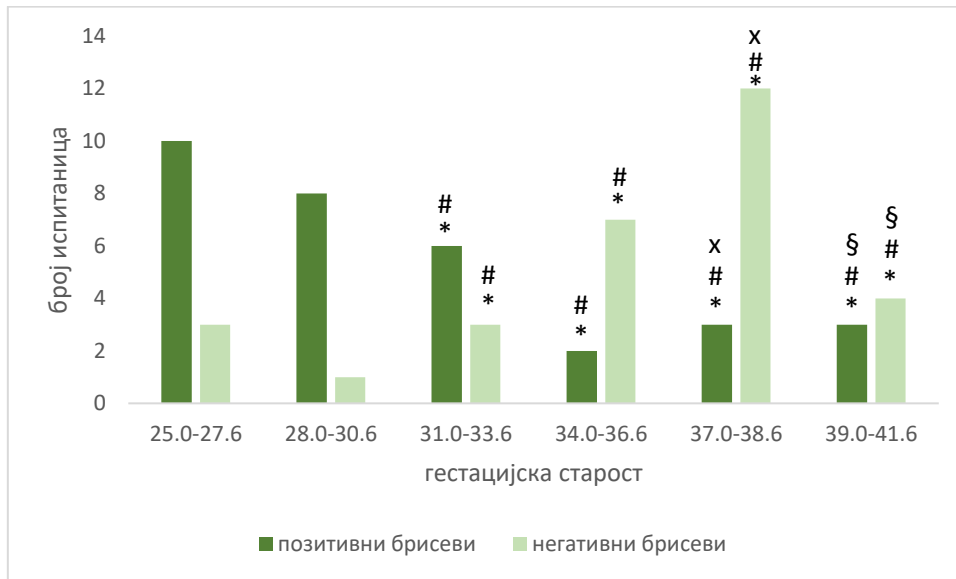
Анализом таблица контингенције (χ^2 тест) показано је да постоји повезаност између позитивних резултата микробиолошке анализе цервикавагиналног бриса и варијабле група (експериментална-претермински порођај са хориоамнионитисом и контролна-термински порођај без хориоамнионитиса); вредност $\text{Chi-square}=8.089$, $p=0.004$ (слика горе). У групи са позитивним микробиолошким анализама цервикавагиналног бриса 81.2% испитаница припада експерименталној групи, што је значајно више од 18.8% испитаница који припадају контролној групи. У групи која је имала негативне микробиолошке анализе цервикавагиналног бриса 46.7% је из групе

претерминских порођаја са хориоамнионитисом што је мање од 53.3% испитаница који су из групе терминских порођаја без хориоамнионитиса.

врста микроорганизама	% заступљености у брису
Ureaplasma urealiticum	44.82
Escherichia coli	31.03
Candida sp.	31.03
Mycoplasma hominis	27.59
Gardnerella vaginalis	24.14
Staphylococcus aureus	20.69
Streptococcus agalactiae	13.79

Табела 4.4. Процентуална заступљеност најчешће изолованих микробиолошких врста из цервикавагиналног бриса у експерименталној групи (претермински порођај са хориоамнионитисом) и контролној групи (термински порођај без хориоамнионитиса)

4.3.2. Повезаност микробиолошке анализе цервикагиналног бриса према гестацијској старости



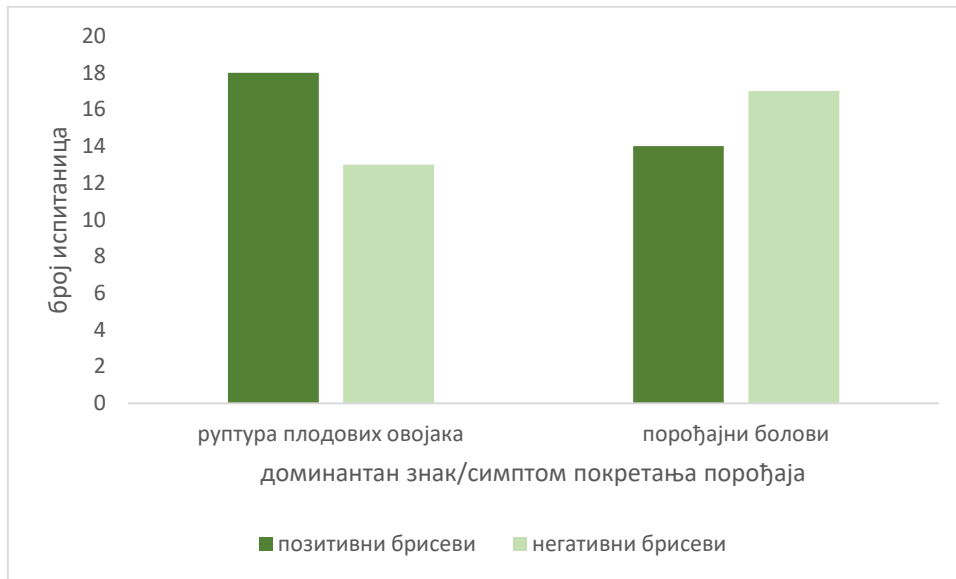
Графикон 4.9. Повезаност микробиолошке анализе цервикагиналног бриса према гестацијској старости у експерименталној групи (претермински порођај са хориоамнионитисом) и контролној групи (термински порођај без хориоамнионитиса).

* означава статистички значајну разлику према одговарајућој групи 25.0-27.6,
означава статистички значајну разлику према одговарајућој групи 28.0-30.6,
x означава статистички значајну разлику према одговарајућој групи 31.0-33.6,
§ означава статистички значајну разлику према одговарајућој групи 37.0-38.6.

Анализом таблица контингенције (X^2 тест) показано је да постоји повезаност између позитивних резултата микробиолошке анализе цервикагиналног бриса и гестацијске старости; вредност Chi-square=18.489, $p=0.002$ (слика горе). Накнадном Post hoc анализом утврђено је да постоји статистички значајна разлика у групи са позитивним цервикагиналним брисевима између изузетно раног и веома раног претерминског порођаја са преосталим групама претерминског и терминским порођаја. Идентична статистички значајна разлика постоји и у групи са негативним цервикагиналним брисевима.

Такође постоји статистички значајна разлика између групе умерено раног претерминског порођаја и раног терминског порођаја, као и између обе групе терминских порођаја међу собом. Наведена статистичка значајност се запажа и у групи са позитивним и у групи са негативним цервикагиналним брисевима.

4.3.3. Повезаност микробиолошке анализе цервикагиналног бриса према иницијалном знаку/симптому покретања порођаја



Графикон 4.10. Повезаност микробиолошке анализе цервикагиналног бриса према иницијалном знаку/симптому покретања порођаја

Анализом таблица контингенције (χ^2 тест) показано је да не постоји повезаност између позитивних резултата микробиолошке анализе цервикагиналног бриса и иницијалног симптома/знака покретања порођаја; вредност Chi-square=1.033, $p=0.309$ (слика горе). У групи која са позитивним микробиолошким анализама цервикагиналног бриса 56.3% испитаница припада групи са руптуром плодoвих овојака као доминантним знаком покретања порођаја, док 43.8% испитаница припадају групи без руптуре плодoвих овојака. У групи која је није која је имала стерилне микробиолошке анализе цервикагиналног бриса 43.3% је из групе са руптуром плодoвих овојака као доминантним знаком покретања порођаја, а 56.7% испитаница је групе без руптуре плодoвих овојака.

4.4. Биохемијске карактеристике

Сви приказани, анализирани биохемијски параметри инфламације (број Le, концентрација CRP и FIB) представљају вредности из серума добијеног центрифугирањем крви кубиталне вене мајке и серума добијеног центрифугирањем крви пупчане вене пупчаника.

4.4.1. Биохемијске карактеристике из крви мајке и крви пупчаника у експерименталној и контролној групи

Биохемијске карактеристике, тј. испитиване вредности инфламаторних показатеља: броја леукоцита (Le), концентрације Ц-реактивног протеина (CRP) и фибриногена (FIB) из крви мајке и крви пупчаника, у експерименталној и контролној групи, приказане су у табели 4.5.

	параметри инфламације	експериментална група	контролна група
из крви (серума) мајке	Le ($\times 10^9/L$)	18.46 \pm 4.47	9.89 \pm 3.04 **
	CRP (mg/L)	44.74 \pm 44.89	7.34 \pm 3.36 **
	FIB (g/L)	5.70 \pm 1.78	4.22 \pm 0.83 **
из крви (серума) пупчаника	Le ($\times 10^9/L$)	15.80 \pm 3.95	8.53 \pm 2.29 **
	CRP (mg/L)	29.89 \pm 30.68	6.09 \pm 2.96 **
	FIB (g/L)	4.88 \pm 1.44	3.97 \pm 0.74 **

Табела 4.5. Параметри инфламације из крви мајке и пупчаника у експерименталној и контролној групи. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна девијација (СД). ** означава статистичку значајност ($p < 0.01$) у односу на експерименталну групу

Концентрације CRP и FIB и број Le анализирани су у крви мајке и крви пупчаника у обе испитиване групе. Средње вредности концентрације CRP и FIB биле су значајно веће у крви мајке и крви пупчаника код испитаница у експерименталној групи у поређењу са контролном групом: средња вредност \pm стандардна девијација 44.74 \pm 44.89 наспрам 7.34 \pm 3.36 mg/L, $p < 0,01$ за CRP из крви мајке; 29.89 \pm 30.68 наспрам 6.09 \pm 2.96 mg/L, $p < 0,01$ за CRP из крви пупчаника; 5.70 \pm 1.78 наспрам 4.22 \pm 0.83 g/L, $p < 0,01$ за FIB из крви мајке; 4.88 \pm 1.44 наспрам 3.97 \pm 0.74 g/L, $p < 0,01$ за FIB из крви пупчаника.

Апсолутни број Le такође је значајно ($p < 0,01$) већи у крви мајке (18.46 \pm 4.47 $\times 10^9/L$) и крви пупчаника (15.80 \pm 3.95 $\times 10^9/L$) у експерименталној групи када се упореди са апсолутним бројем ових ћелија у крви мајке (9.89 \pm 3.04 $\times 10^9/L$) и крви пупчаника (8.53 \pm 2.29 $\times 10^9/L$) у контролној групи.

4.4.2. Биохемијске карактеристике из крви мајке и крви пупчаника код испитаница према гестациској старости

Биохемијске карактеристике, тј испитиване вредности инфламаторних показатеља: броја леукоцита (Le), концентрације Ц-реактивног протеина (CRP) и фибриногена (FIB) из крви мајке и крви пупчаника према гестациској старости у експерименталној и контролној групи, приказане су у табели 4.6.

гестациска старост	експериментална група				контролна група	
	25.0-27.6	28.0-30.6	31.0-33.6	34.0-36.6	37.0-38.6	39.0-41-6
параметри инфламације из крви (серума) мајке						
Le (x10⁹/L)	19.98 ± 5.20	17.62 ± 4.20	17.66 ± 5.27	17.91 ± 2.40	9.07 ± 3.06 A,B,C,D	11.63 ± 2.30 A,B,C,D
CRP (mg/L)	74.95 ± 58.04	44.93 ± 29.75	19.67 ± 17.26 A,B	25.98 ± 31.67 A,B	7.82 ± 3.41 A,B,C,D	6.31 ± 3.26 A,B,C,D
FIB (g/L)	6.23 ± 1.86	5.28 ± 2.49	5.51 ± 1.42	5.52 ± 1.14	4.19 ± 0.94 A,C,D	4.30 ± 0.60 A
параметри инфламације из крви (серума) пупчаника						
Le (x10⁹/L)	17.87 ± 4.15	16.62 ± 3.28	13.03 ± 3.74 A,B	14.77 ± 2.83 A	7.82 ± 2.21 A,B,C,D	10.04 ± 1.73 A,B,D
CRP (mg/L)	52.12 ± 40.84	26.86 ± 19.41	18.07 ± 16.26 A	12.63 ± 11.79 A,B	6.09 ± 2.86 A,B,C,D	6.09 ± 3.39 A,B,C
FIB (g/L)	5.61 ± 1.59	4.58 ± 1.74 A	4.81 ± 0.91	4.21 ± 1.03 A	4.18 ± 0.64 A	3.51 ± 0.78 A,C

Табела 4.6. Параметри инфламације из крви мајке и пупчаника у експерименталној и контролној групи, према гестациској старости. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) ± стандардна девијација (СД). Слово (A,B,C,D,E) означава статистичку значајност ($p < 0.05$) према: A – групи 25.0-27.6; B – групи 28.0-30.6; C – групи 31.0-33.6; D – групи 34.0-36.6; E – групи 37.0-38.6

Концентрације CRP и FIB и број Le анализирани су у крви мајке и крви пупчаника у обе испитиване групе, а према гестациској старости. Закључујемо да не постоји статистички значајна разлика у броју Le између испитиваних група различитих гестациских старости у оквиру експерименталне групе. Такође, вредности броја Le, концентрације CRP и FIB су веће у експерименталној него у контролној групи компатибилне гестациске старости.

Статистички значајна разлика постоји у концентрацији CRP-а из крви мајке у експерименталној групи, између умерено раног (31.0-33.6) и касног претерминског порођаја (34.0-36.6), према изузетно раном (25.0-27.6) и веома раном (28.0-30.6) претерминском порођају, али не и међусобом. Не постоји статистички значајна разлика у концентрацији FIB из крви мајке, између испитиваних група различитих гестациских старости у оквиру експерименталне групе.

Статистички значајна разлика постоји у броју Le из крви пупчаника у експерименталној групи, између умерено раног (31.0-33.6) и касног претерминског порођаја (34.0-36.6), према изузетно раном (25.0-27.6), као и умерено раном (31.0-33.6) и веома раном (28.0-30.6) претерминског порођаја. Запажа се и статистичка значајност

броја Le из крви пупчаника између умерено раног претерминског порођаја (31.0-33.6) према веома раном (28.0-30.6) претерминском порођају.

Концентрације CRP-а из крви пупчаника у експерименталној групи показују статистичку значајност између умерено раног (31.0-33.6) и касног претерминског порођаја (34.0-36.6), према изузетно раном (25.0-27.6) и веома раном (28.0-30.6) претерминском порођају, али не и међусобом.

Концентрације FIB у крви пупчаника статистички су значајне у експерименталној групи, само између касног (34.0-36.6) и веома раног (28.0-30.6) претерминског порођаја према групи изузетно раног (25.0-27.6) претерминског порођаја. Статистичка значајност концентрације FIB у крви пупчаника постоји и између раног (37.0-38.6) и касног (39.0-41.6) терминског порођаја према изузетно раном (25.0-27.6) и умерено раном (31.0-33.6) претерминском порођају.

Број Le и концентрација CRP-а, како из крви мајке, тако и из крви пупчаника у групи раног терминског порођаја (37.0-38.6) показује статистичку значајност према све четири груписане гестације у оквиру експерименталне групе, док статистички значајна разлика у концентрацији FIB у крви мајке постоји између обе контролне групе према изузетно раном (25.0-27.6) претерминском порођају. Група раног терминског порођаја (37.0-38.6) показује статистичку значајност у концентрацији FIB у крви мајке и према групи умерено раног (31.0-33.6) и касног претерминског порођаја (34.0-36.6).

Групе раног (37.0-38.6) и касног терминског (39.0-41.6) порођаја показују статистичку значајност у броју Le и концентрацији CRP-а из крви мајке, према све четири експерименталне групе аналогних биохемијских параметара. Такође статистичка значајност постоји и у броју Le и концентрацији CRP-а из крви пупчаника групе раног (37.0-38.6) терминског порођаја према све четири експерименталне групе аналогних биохемијских параметара. Не постоји статистички значајна разлика вредности испитиваних биохемијских параметара ни из крви мајке, нити из крви пупчаника између групе раног (37.0-38.6) и касног терминског (39.0-41.6) порођаја.

4.4.3. Биохемијске карактеристике из крви мајке и крви пупчаника код испитаница са присутном и одсутном цервиковагиналном инфекцијом

Биохемијске карактеристике, тј испитиване вредности инфламаторних показатеља: броја леукоцита (Le), концентрације Ц-реактивног протеина (CRP) и фибриногена (FIB) из крви мајке и крви пупчаника, у групи са присутном и одсутном цервиковагиналном инфекцијом (према резултатима микробиолошке анализе цервиковагиналног бриса), приказане су у табели 4.7.

	параметри инфламације	цервиковагинална инфекција	стерилни брисеви (цервиковагинални)
из крви (серума) мајке	Le ($\times 10^9/L$)	18.39 \pm 5.27	12.25 \pm 4.44 **
	CRP (mg/L)	48.70 \pm 47.40	13.09 \pm 18.00 **
	FIB (g/L)	5.42 \pm 1.97	4.91 \pm 1.25
из крви (серума) пупчаника	Le ($\times 10^9/L$)	15.36 \pm 4.49	10.94 \pm 4.33 **
	CRP (mg/L)	33.57 \pm 33.41	8.51 \pm 4.56 **
	FIB (g/L)	4.66 \pm 1.57	4.45 \pm 0.97

Табела 4.7. Параметри инфламације из крви мајке и пупчаника у групи са и без присутне цервиковагиналне инфекције (стерилни и нестерилни цервиковагинални брисеви). Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна девијација (СД). ** означава статистичку значајност ($p < 0.01$) у односу на групу без цервиковагиналне инфекције

Концентрације CRP и FIB и број Le анализирани су у крви мајке и крви пупчаника фетуса у обе испитиване групе. Средње вредности концентрације CRP биле су значајно веће у крв мајке и крви пупчаника код испитаница са присутном цервиковагиналном инфекцијом (нестерилни брисеви) у поређењу са групом испитаница која није имала цервиковагиналну инфекцију (стерилни брисеви): средња вредност \pm стандардна девијација 48.70 \pm 47.40 наспрам 13.09 \pm 18.00 mg/L, $p < 0,01$ за CRP из крви мајке; 33.57 \pm 33.41 наспрам 8.51 \pm 4.56 mg/L, $p < 0,01$ за CRP из крви пупчаника.

Апсолутни број Le такође је значајно ($p < 0,01$) већи у крви мајке (18.39 \pm 5.27 $\times 10^9/L$) и крви пупчаника (15.36 \pm 4.49 $\times 10^9/L$) у групи са присутном цервиковагиналном инфекцијом када се упореди са апсолутним бројем ових ћелија у крви мајке (12.25 \pm 4.44 $\times 10^9/L$) и крви пупчаника (10.94 \pm 4.33 $\times 10^9/L$) у групи која није имала цервиковагиналну инфекцију.

Није постојала статистички значајна разлика у средњој вредности концентрације FIB у крв мајке и крви пупчаника ни у групи са присуном цервиковагиналном инфекцијом, ни у групи са стерилним цервиковагиналним брисом.

4.4.4. Биохемијске карактеристике из крви мајке и крви пупчаника код испитаница са руптуром плодових овојака и са порођајним боловима (без руптуре плодових овојака) као доминантним знаком/симптомом покретања порођаја

Биохемијске карактеристике, тј испитиване вредности инфламаторних показатеља: броја леукоцита (Le), концентрације Ц-реактивног протеина (CRP) и фибриногена (FIB) из крви мајке и крви пупчаника, у групи са руптуром плодових овојака и групи са порођајним боловима (без руптуре плодових овојака) као доминантним знаком/симптомом покретања порођаја, приказане су у табели 4.8.

	параметри инфламације	руптура плодових овојака	порођајни болови
из крви (серума) мајке	Le ($\times 10^9/L$)	17.41 \pm 5.79	13.43 \pm 5.05 **
	CRP (mg/L)	42.17 \pm 47.31	20.77 \pm 28.55 **
	FIB (g/L)	5.51 \pm 1.82	4.83 \pm 1.44
из крви (серума) пупчаника	Le ($\times 10^9/L$)	14.61 \pm 5.15	11.83 \pm 4.30 *
	CRP (mg/L)	28.50 \pm 33.58	14.39 \pm 16.34 *
	FIB (g/L)	4.75 \pm 1.45	4.37 \pm 1.14

Табела 4.8. Параметри инфламације из крви мајке и пупчаника у групи са руптуром плодових овојака и групи са порођајним боловима (без руптуре плодових овојака) као доминантним знаком/симптомом покретања порођаја. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна девијација (СД). ** означава статистичку значајност ($p < 0.01$), док * означава статистичку значајност ($p < 0.05$) у односу на групу без руптуре плодових овојака

Концентрације CRP и FIB и број Le анализирани су у крви мајке и крви пупчаника фетуса у обе испитиване групе. Средње вредности концентрације CRP биле су значајно веће у крв мајке и крви пупчаника код испитаница са руптуром плодових овојака у поређењу са групом испитаница која није имала руптуру плодових овојака: средња вредност \pm стандардна девијација 42.17 \pm 47.31 наспрам 20.77 \pm 28.55 mg/L, $p < 0,01$ за CRP из крви мајке; 28.50 \pm 33.58 наспрам 14.39 \pm 16.34 mg/L, $p < 0,05$ за CRP из крви пупчаника.

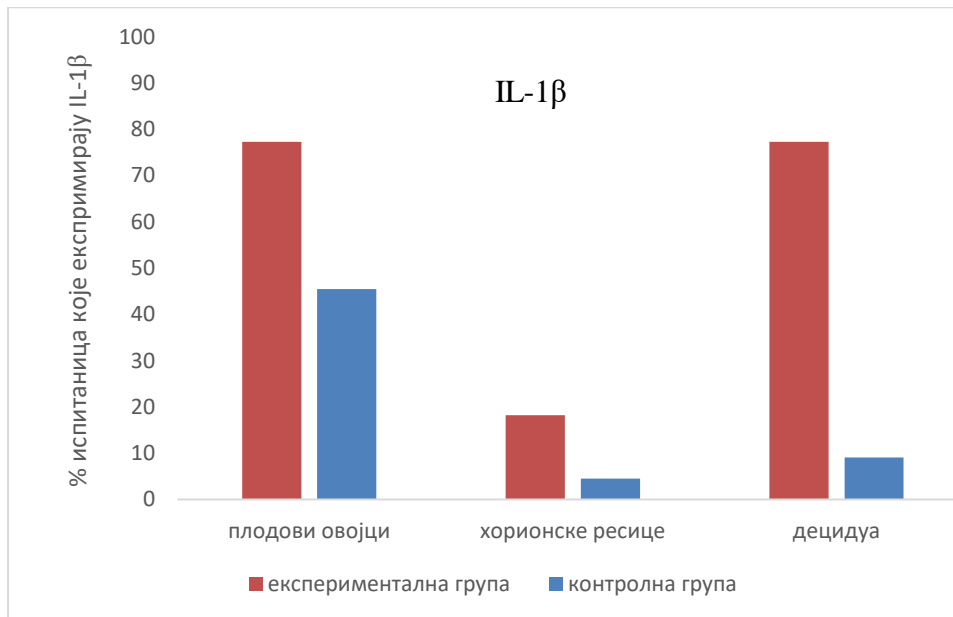
Апсолутни број Le такође је значајно већи у крви мајке ($p < 0,01$) (17.41 \pm 5.79 $\times 10^9/L$) и крви пупчаника ($p < 0,05$) (14.61 \pm 5.15 $\times 10^9/L$) у групи са руптуром плодових овојака када се упореди са апсолутним бројем ових ћелија у крви мајке (13.43 \pm 5.05 $\times 10^9/L$) и крви пупчаника (11.83 \pm 4.30 $\times 10^9/L$) у групи која није имала руптуру плодових овојака.

Није постојала статистички значајна разлика у средњој вредности концентрације FIB у крв мајке и крви пупчаника ни у групи са пристуном руптуром плодових овојака, ни у групи без руптуре плодових овојака.

4.5. Имунохистохемијске (ИНС) анализе

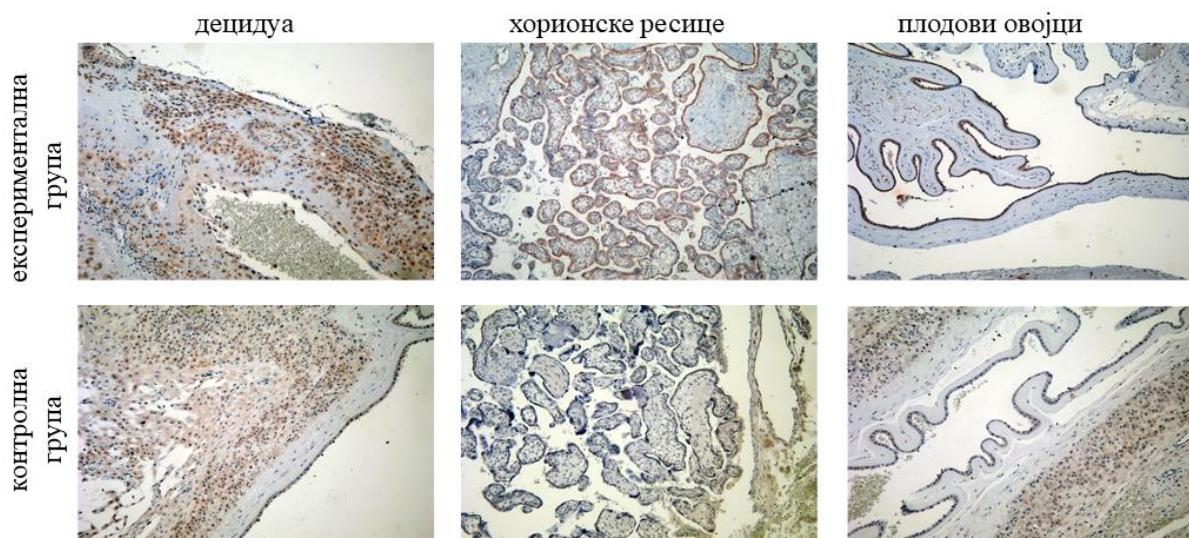
4.5.1. Експресија IL-1 β у плодовим овојцима и ткиву постељице у експерименталној и контролној групи

Процент узорака који експримирају IL-1 β у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи, како у експерименталној, тако и у контролној групи, приказан је на графикону 4.11.



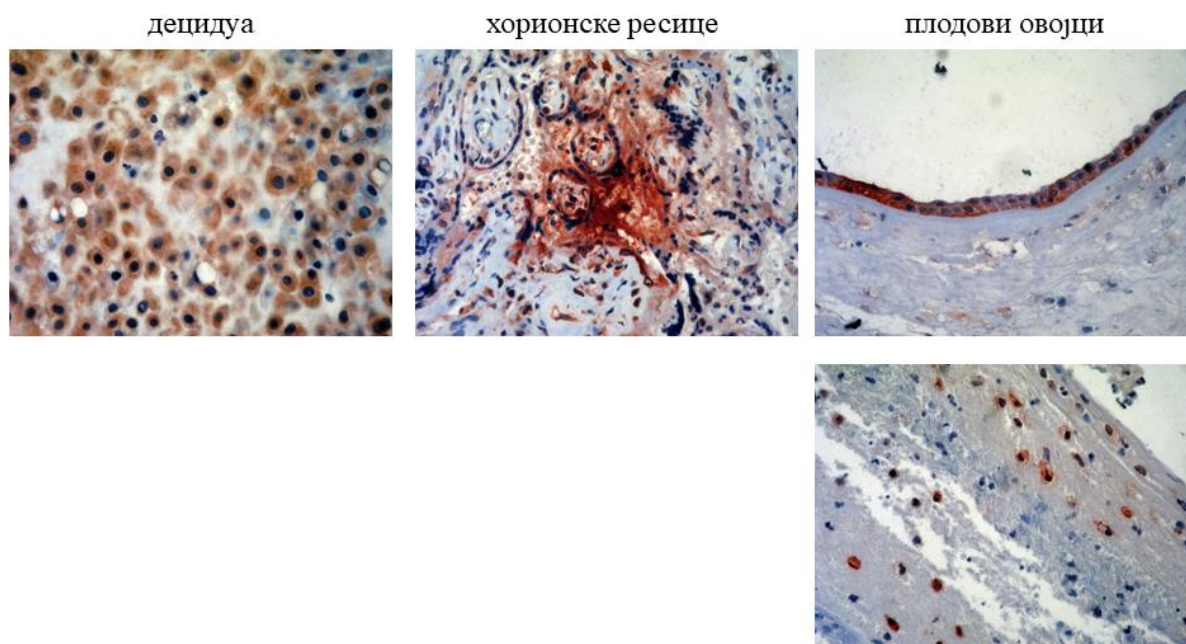
Графикон 4.11. Инциденца IL-1 β у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи у експерименталној и контролној групи

Мали проценат узорака који експримирају IL-1 β у децидуи и хорионским ресицама откривен је у контролној групи. Насупрот томе, IL-1 β био је експримиран у високом проценту у експерименталној групи, у сва три компартмана, али најмање у хорионским ресицама. Већи проценат позитивних тестираних узорака пронађен је у експерименталној групи у односу на контролну групу за IL-1 β (77,27% у плодовим овојцима код експерименталне наспрам 45,45% код контролне групе; 18,18% у ресицама код експерименталне наспрам 4,54% код контролне групе; 77,27% у децидуама код експерименталне наспрам 9,09% код контролне групе) (графикон 4.11.).



Слика 4.2. Репрезентативни имунохистохемијски препарати експресије IL-1 β у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи из експерименталне и контролне групе (увећање 100 \times)

Ниво експресије IL-1 β је био значајно виши ($p < 0,001$) у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи у експерименталној групи у односу на контролну групу (Слика 4.2.). Већи нивои експресије IL-1 β су откривени у плодовим овојцима и децидуи него у ресицама у обе групе, експерименталној и контролној (Слика 4.3.).



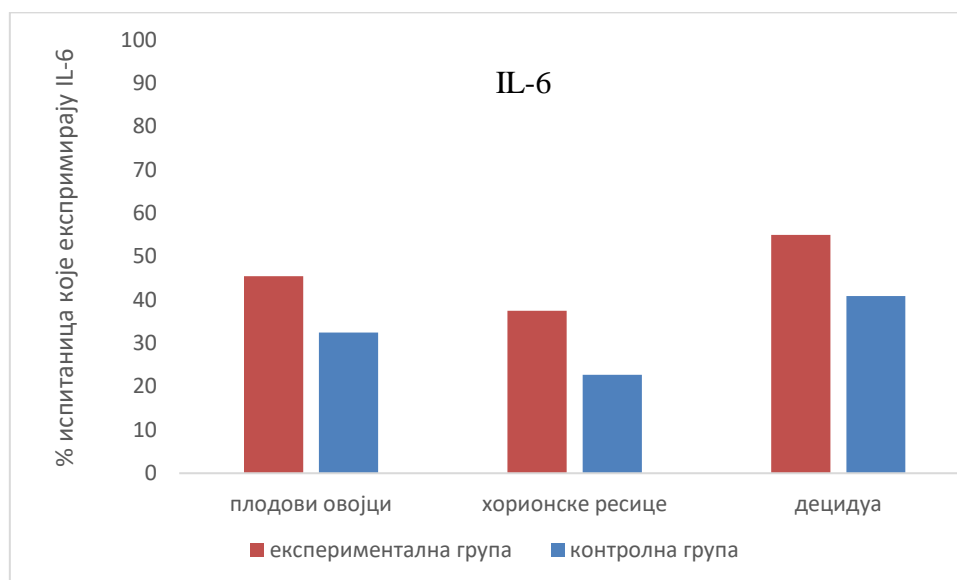
Слика 4.3. IL-1 β бојење амнионских, трофобластних и децидуалних ћелија у децидуи (1), хорионским ресицама (2) и плодовим овојцима (3) у експерименталној групи (увећање 400 \times)

Анализа локализације бојења IL-1 β открила је разлику у интензитету бојења у узорцима експерименталне и контролне групе, па су репрезентативни узорци из експерименталне групе представљени на слици 4.2.

IL-1 β је детектован у цитоплазми децидуалних и амнионских ћелија, док је у ресицама IL-1 β углавном детектован екстрацелуларно у интравилозном везивном ткиву, што је слично обрасцу експресије, а такође и у екстравилозном ткиву. Поред екстрацелуларне локализације, IL-1 β је детектован у цитоплазми ћелија трофобласта и такође у мононуклеарним инфламаторним ћелијама у хорионским ресицама. Поред тога, IL-1 β је откривен у мононуклеарним инфламаторним ћелијама у хориону као и у екстрацелуларном простору око ових инфламаторних ћелија (слика 4.3.).

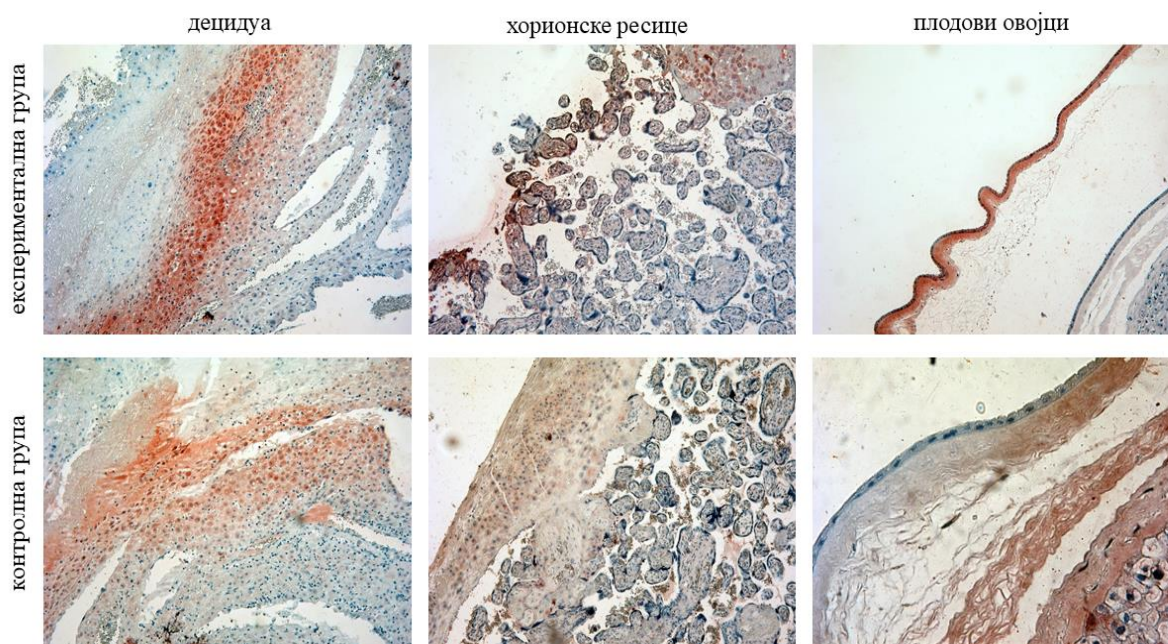
4.5.2. Експресија IL-6 у плодовим овојцима и ткиву постељице у експерименталној и контролној групи

Процент узорака који експримирају IL-6 у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи, како у експерименталној, тако и у контролној групи, приказан је на графикону 4.12.



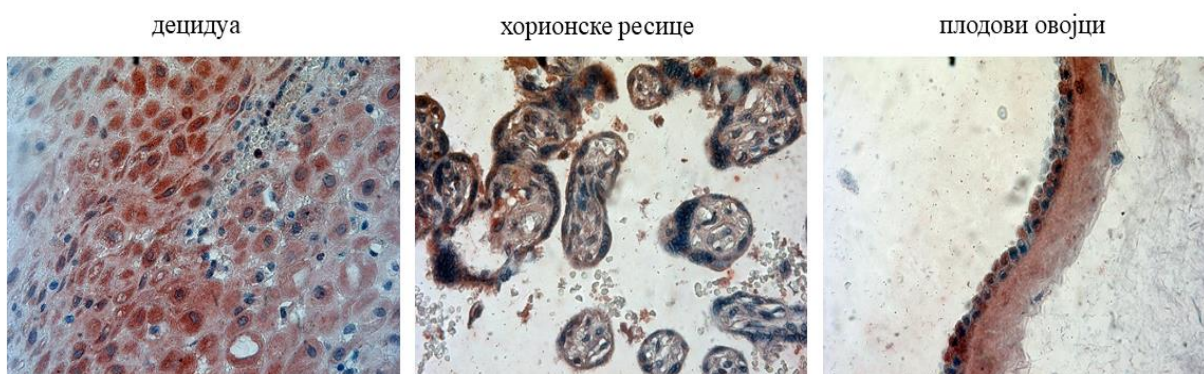
Графикон 4.12. Инциденца IL-6 у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи у експерименталној и контролној групи

IL-6 је био експримиран у високом проценту у експерименталној групи, у сва три компартмана. Већи проценат позитивних тестираних узорака пронађен је у експерименталној групи у односу на контролну групу за IL-6 (45,45% у плодовим овојцима код експерименталне наспрам 32,50% у контролној групи; 37,50% у ресицама код експерименталне наспрам 22,73% у контролној групи; 55,00% у децидуама у експерименталној групи наспрам 40,91% у контролној групи) (графикон 4.12.).



Слика 4.4. Репрезентативни имунохистохемијски препарати експресије IL-6 у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи из експерименталне и контролне групе (увећање 100×)

Ниво експресије IL-6 је био значајно виши ($p < 0,001$) у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи у експерименталној групи у односу на контролну групу (Слика 4.4.). Већи нивои експресије IL-1 β су откривени у плодовим овојцима и децидуи него у ресицама у обе групе, експерименталној и контролној (Слика 4.5.).

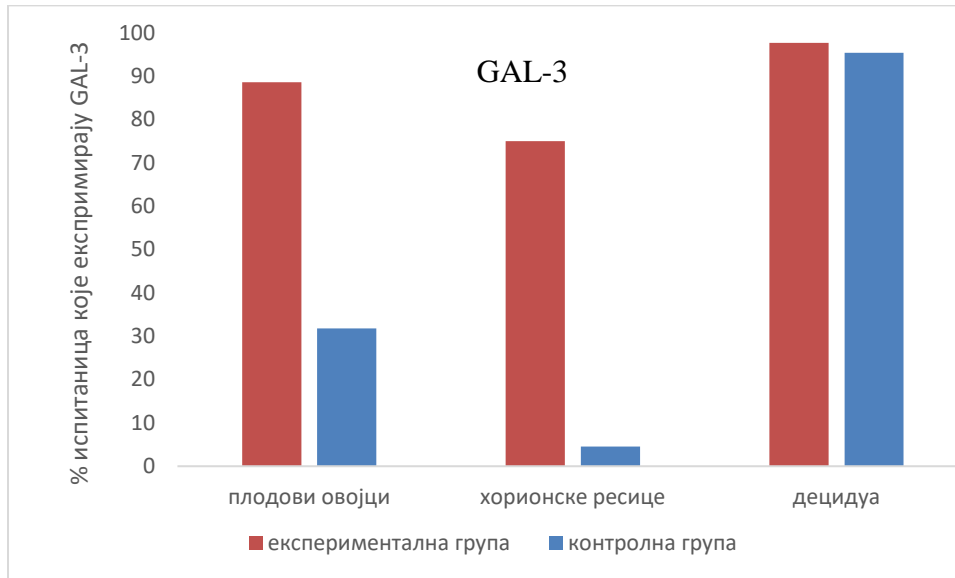


Слика 4.5. IL-6 бојење амнионских, трофобластних и децидуалних ћелија у децидуи (1), хорионским ресицама (2) и плодовим овојцима (3) у експерименталној групи (увећање 400×)

Уочена је умерена експресија ПЛ-6 у цитоплазми децидуалних и амнионских ћелија и моноклеарних ћелија инфилтрата децидуе. У хорионским ресицама ПЛ-6 је слабије експримиран и то у интравилозном везивном ткиву хорионских ресица и ћелијама цитотрофобласта.

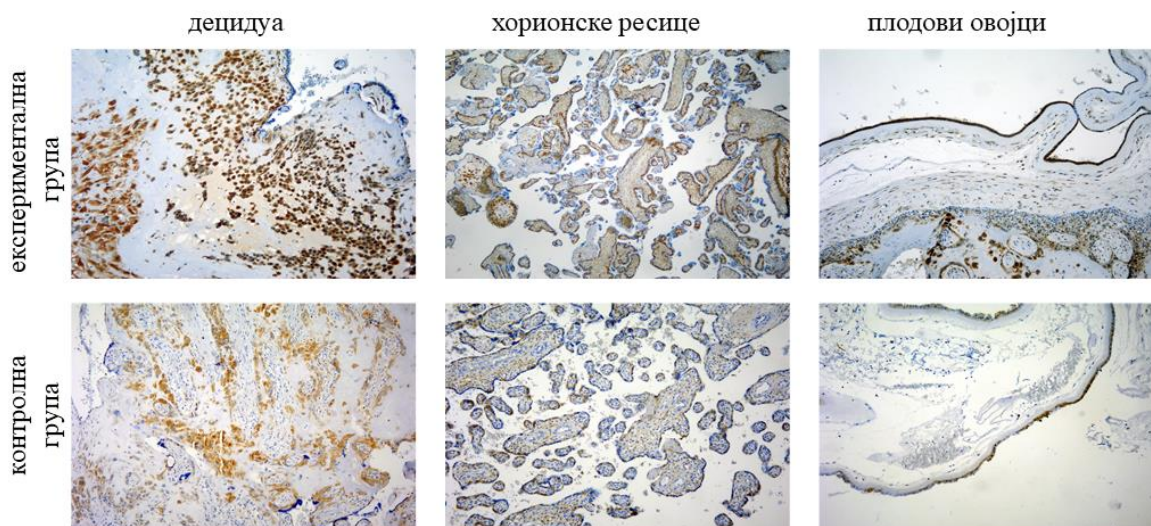
4.5.3. Експресија GAL-3 у плодовим овојцима и ткиву постељице у експерименталној и контролној групи

Процент узорака који експримирају GAL-3 у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи, како у експерименталној, тако и у контролној групи, приказан је на графикону 4.13.



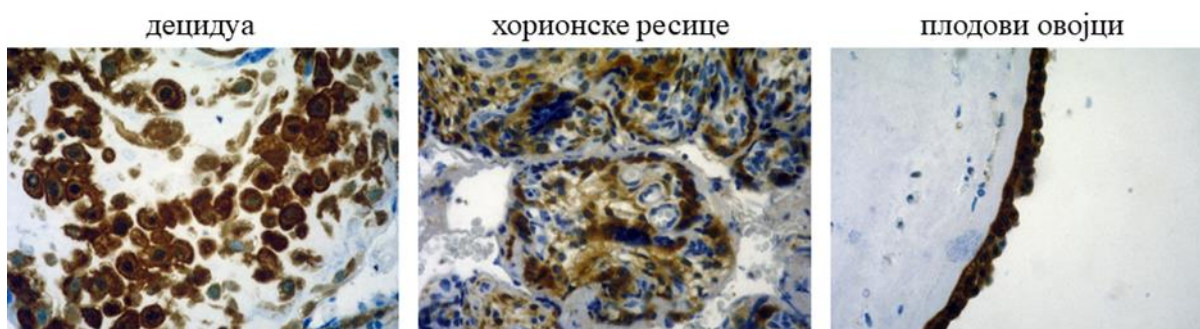
Графикон 4.13. Инциденца GAL-3 у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи у експерименталној и контролној групи

GAL-3 је био експримиран у високом проценту у експерименталној групи, у сва три компартмана. Већи проценат позитивних тестираних узорака пронађен је у експерименталној групи у односу на контролну групу за GAL-3 (88,63% у плодовим овојцима код експерименталне наспрам 31,81% у контролној групи; 75,00% у ресицама код експерименталне наспрам 4,54% у контролној групи; 97,72% у децидуама у експерименталној групи наспрам 95,45% у контролној групи) (графикон 4.13.)



Слика 4.6. Репрезентативни имунохистохемијски препарати експресије GAL-3 у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи из експерименталне и контролне групе (увећање 100×)

Ниво експресије GAL-3 је био значајно виши ($p < 0,001$) у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи у експерименталној групи у односу на контролну групу (слика 4.6). Већи нивои експресије GAL-3 су откривени у плодовим овојцима и децидуи него у ресицама у обе групе, експерименталној и контролној (слика 4.7.).



Слика 4.7. GAL-3 бојење амнионских, трофобластних и децидуалних ћелија у децидуи (1), хорионским ресицама (2) и плодовим овојцима (3) у експерименталној групи (увећање 400×)

Анализа локализације бојења GAL-3 открила је разлику у интензитету бојења у узорцима експерименталне и контролне групе, па су репрезентативни узорци из експерименталне групе представљени на слици 4.6.

GAL-3 је експримиран у цитоплазми, као и у неким једрима децидуалних и амнионских ћелија. Међутим, у хорионским ресицама, GAL-3 је детектован у

цитоплазми ћелија трофобласта и моноклеарних инфламаторних ћелија, као и екстрацелуларно у везивном ткиву хорионских ресица (слика 4.7)

4.5.4. Експресија IL-33 у плодовим овојцима и ткиву постељице у експерименталној и контролној групи

Анализом плочица, након спроведеног имунохистохемијског бојења, нисмо нашли експресију IL-33 у плодовим овојцима и ткиву постељице ни у експерименталној нити у контролној групи.

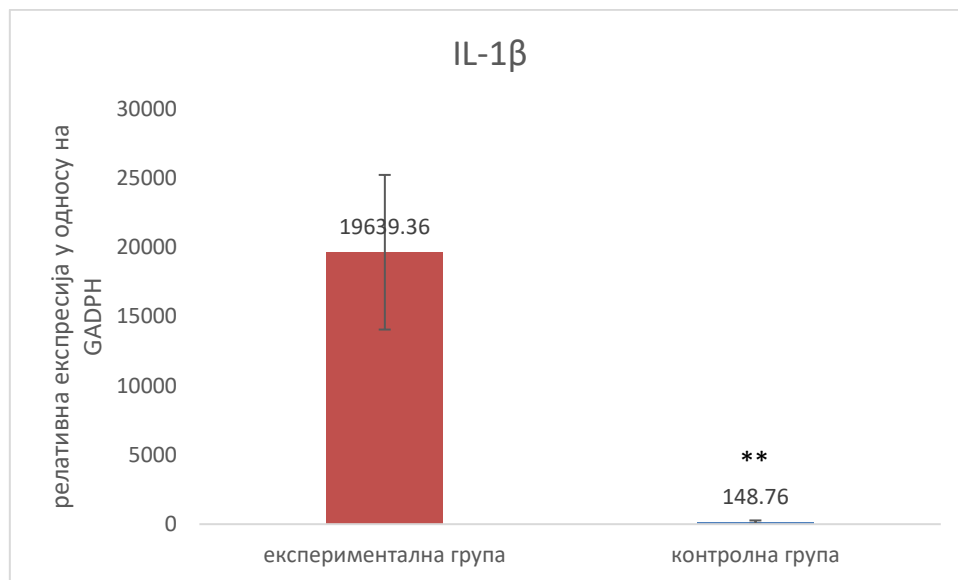
4.6. PCR анализа

4.6.1. Експресија испитиваних цитокина у ткиву постелице у експерименталној и контролној групи

Релативна експресија испитиваних цитокина (у односу на GADPH) у ткиву постелице, како у експерименталној, тако и у контролној групи, приказана је на наступајућим графиконима.

4.6.1.1. Експресија IL-1 β у ткиву постелице у експерименталној и контролној групи

Релативна експресија IL-1 β (у односу на GADPH) у ткиву постелице, како у експерименталној, тако и у контролној групи, приказана је на графикону 4.14.

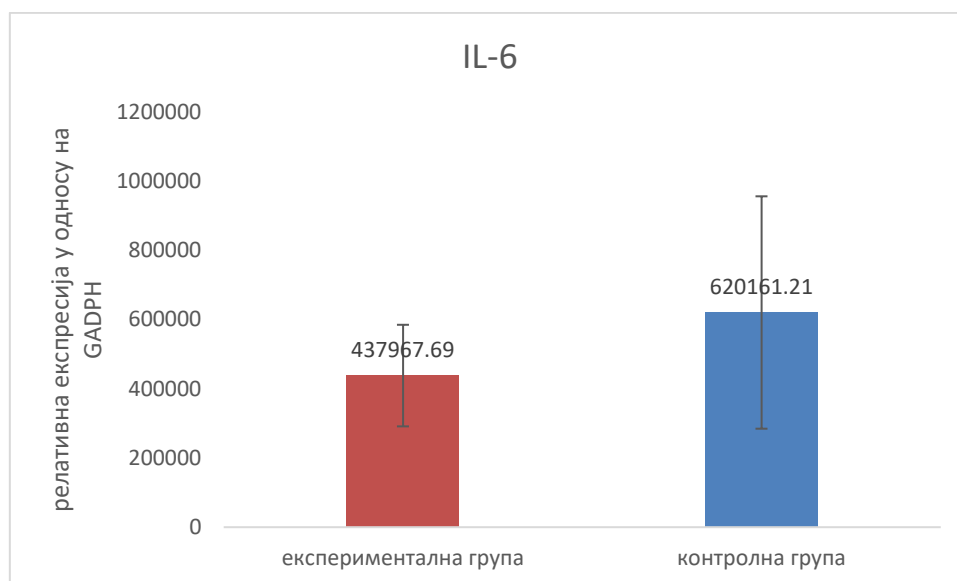


Графикон 4.14. Експресија IL-1 β у експерименталној и контролној групи. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна грешка (СГ). ** означава статистичку значајност ($p < 0.01$) у односу на експерименталну групу

Запажамо интензивнију експресију IL-1 β у експерименталној групи у односу на контролну групу. Постоји статистички значајна разлика у експресији IL-1 β између испитиваних група ($p < 0.01$).

4.6.1.2. Експресија IL-6 у ткиву постелице у експерименталној и контролној групи

Релативна експресија IL-6 (у односу на GAPDH) у ткиву постелице, како у експерименталној, тако и у контролној групи, приказана је на графикону 4.15.

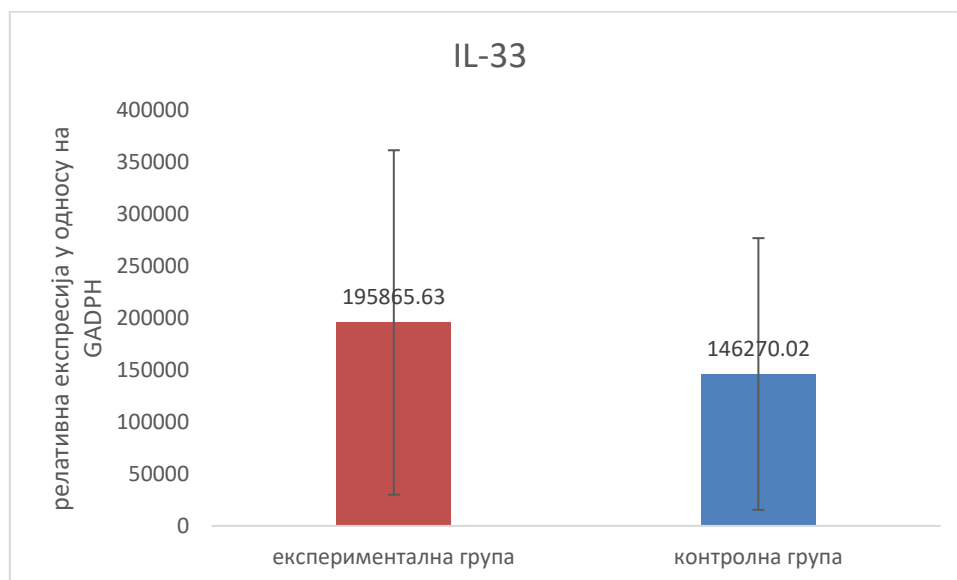


Графикон 4.15. Експресија IL-6 у експерименталној и контролној групи. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) ± стандардна грешка (СГ)

Иако постоји интензивнија експресија IL-6 у контролној групи у односу на експерименталну групу, није утврђена статистички значајна разлика у експресији овог цитокина између испитиваних група.

4.6.1.3. Експресија IL-33 у ткиву постелице у експерименталној и контролној групи

Релативна експресија IL-33 (у односу на GAPDH) у ткиву постелице, како у експерименталној, тако и у контролној групи, приказана је на графикану 4.16.

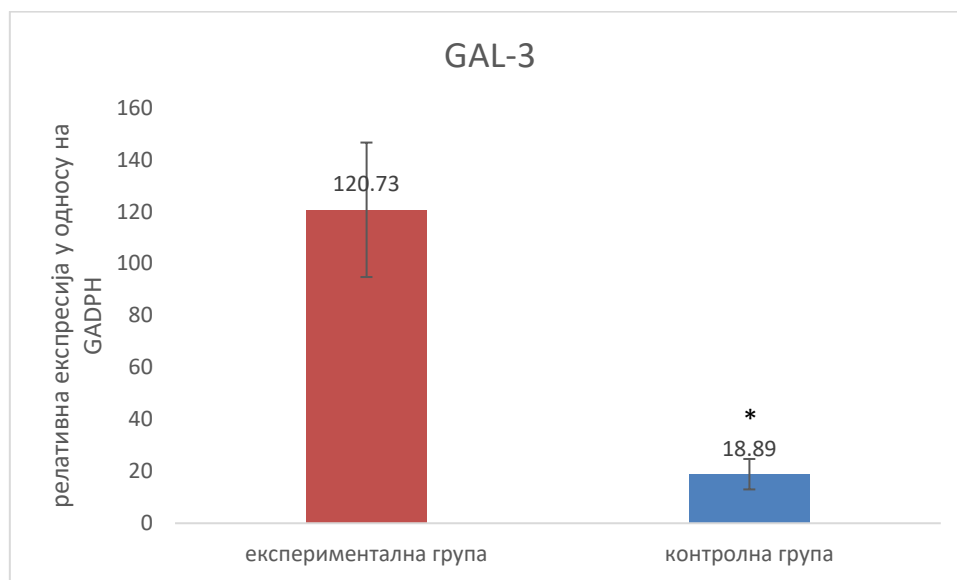


Графикон 4.16. Експресија IL-33 у експерименталној и контролној групи. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна грешка (СТ)

Уочава се интензивнија експресија IL-33 у експерименталној групи у односу на контролну групу. Међутим није утврђена статистички значајна разлика у експресији овог цитокина између испитиваних група, али се запажа да су вредности обрнуто пропорционалне експресији IL-6 у комплементним групама.

4.6.1.4. Експресија GAL-3 у ткиву постелице у експерименталној и контролној групи

Релативна експресија GAL-3 (у односу на GADPH) у ткиву постелице, како у експерименталној, тако и у контролној групи, приказана је на графикану 4.17.



Графикон 4.17. Експресија GAL-3 у експерименталној и контролној групи. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна грешка (СГ).
* означава статистичку значајност ($p < 0.05$) у односу на експерименталну групу

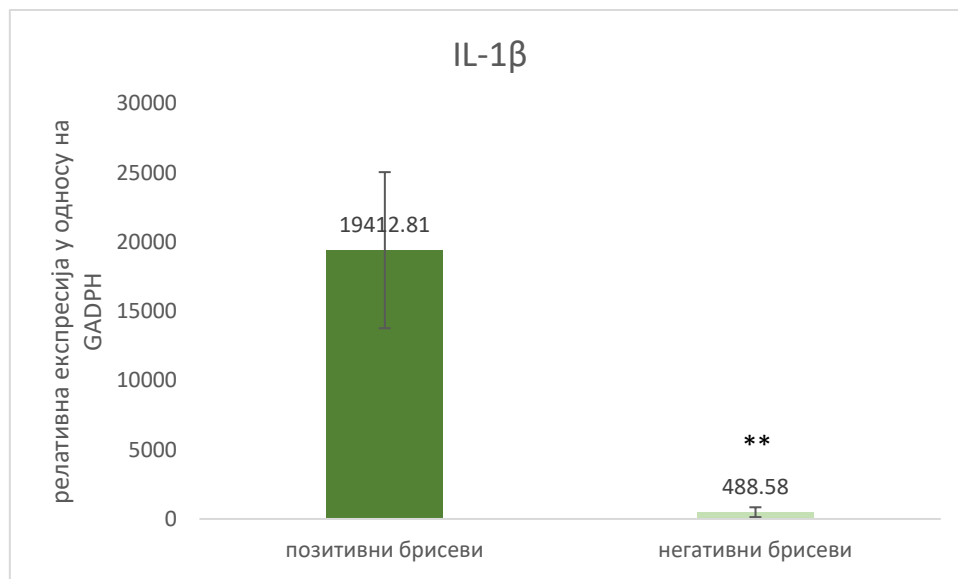
Запажамо интензивнију експресију GAL-3 у експерименталној групи у односу на контролну групу. Постоји статистички значајна разлика у експресији GAL-3 између испитиваних група ($p < 0.05$)

4.6.2. Експресија испитиваних цитокина у ткиву постелице у групи са и групи без присутне цервикагинална инфекције

Релативна експресија испитиваних цитокина (у односу на GADPH) у ткиву постелице, како у групи са позитивним цервикагиналним брисом, тако и у групи са стерилним цервикагиналним брисом, приказана је на наступајућим графиконима.

4.6.2.1. Експресија IL-1 β у ткиву постелице у групи са и групи без присутне цервикагинална инфекције

Релативна експресија IL-1 β (у односу на GADPH) у ткиву постелице у групи са и групи без присутне цервикагинална инфекције, приказана је на графикону 4.18.

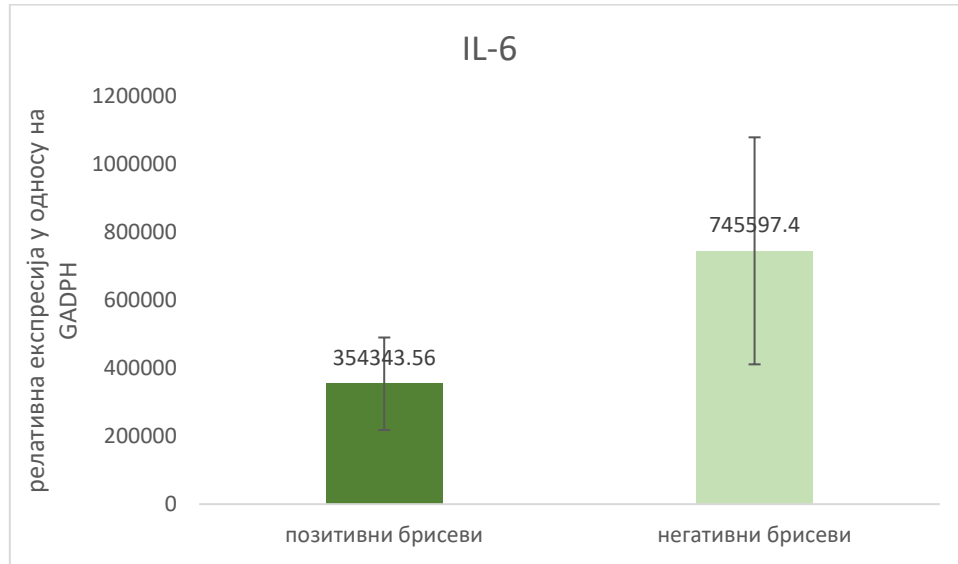


Графикон 4.18. Експресија IL-1 β у групи са и групи без присутне цервикагинална инфекције. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна грешка (СГ). ** означава статистичку значајност ($p < 0.01$) у односу на групу са позитивним брисевима

Запажамо интензивнију експресију IL-1 β у групи са позитивним цервикагиналним брисевима у односу на групу са негативним (стерилним) брисевима. Постоји статистички значајна разлика у експресији IL-1 β између испитиваних група ($p < 0.01$).

4.6.2.2. Експресија IL-6 у ткиву постељице у групи са и групи без присутне цервикагинаалне инфекције

Релативна експресија IL-6 (у односу на GAPDH) у ткиву постељице у групи са и групи без присутне цервикагинаалне инфекције, приказана је на графикану 4.19.

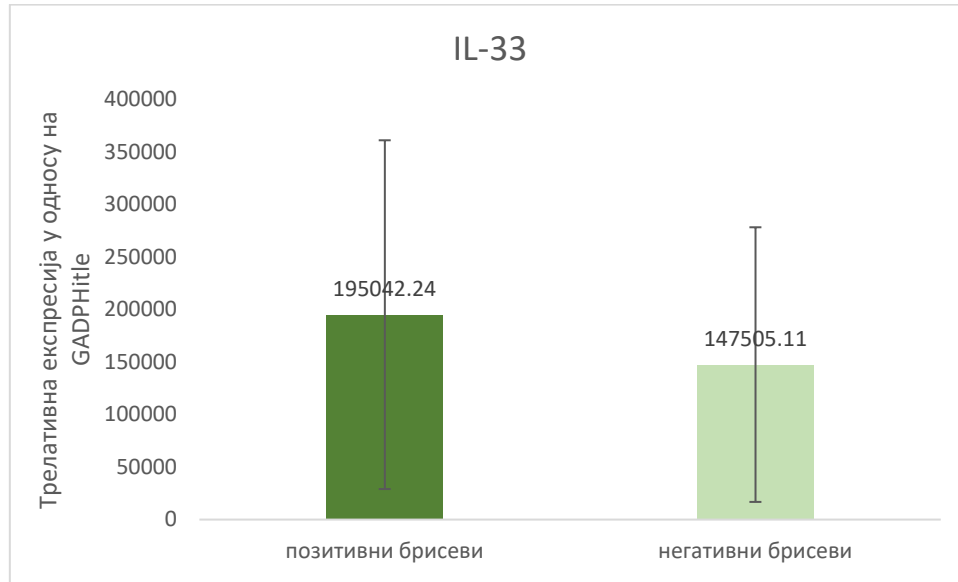


Графикон 4.19. Експресија IL-6 у групи са и групи без присутне цервикагинаалне инфекције. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) ± стандардна грешка (СТ)

Запажамо интензивнију експресију IL-6 у групи са негативним цервикагинаалним брисевима у односу на групу са позитивним цервикагинаалним брисевима. Не постоји статистички значајна разлика у експресији IL-6 између испитиваних група.

4.6.2.3. Експресија IL-33 у ткиву постелице у групи са и групи без присутне цервиковагинална инфекције

Релативна експресија IL-33 (у односу на GAPDH) у ткиву постелице у групи са и групи без присутне цервиковагинална инфекције, приказана је на графикону 4.20.

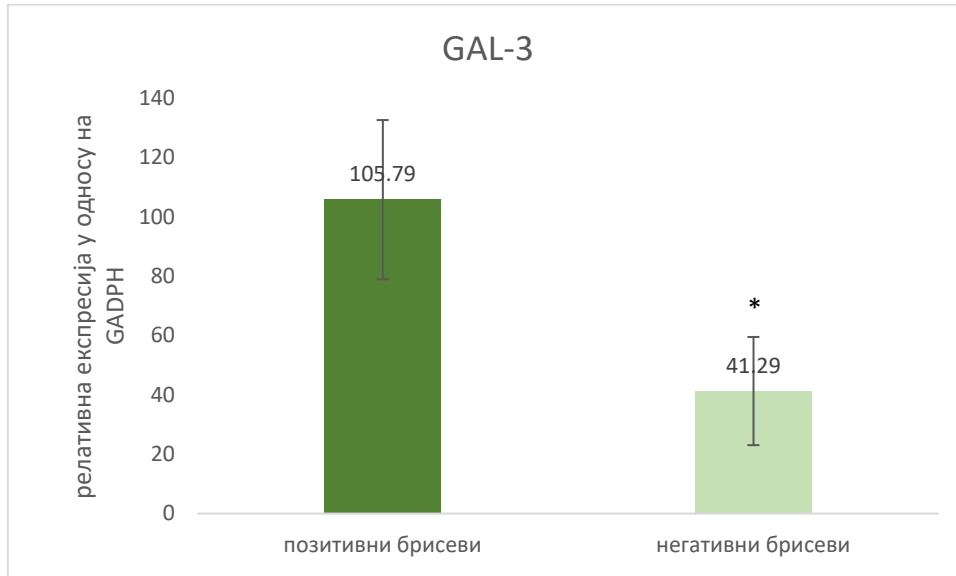


Графикон 4.20. Експресија IL-33 у групи са и групи без присутне цервиковагинална инфекције. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) ± стандардна грешка (СТ)

Уочава се интензивнија експресија IL-33 у групи са позитивним цервиковагиналним брисевима у односу на групу са негативним цервиковагиналним брисевима. Међутим није утврђена статистички значајна разлика у експресији овог цитокина између испитиваних група, али се запажа да су вредности обрнуто пропорционалне експресији IL-6 у комплементним групама.

4.6.2.4. Експресија GAL-3 у ткиву постелице у групи са и групи без присутне цервиковагинална инфекције

Релативна експресија GAL-3 (у односу на GADPH) у ткиву постелице у групи са и групи без присутне цервиковагинална инфекције, приказана је на графикону 4.21.



Графикон 4.21. Експресија GAL-3 у групи са и групи без присутне цервиковагинална инфекције. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) ± стандардна грешка (СГ). * означава статистичку значајност ($p < 0.05$) у односу на групу са позитивним брисевима

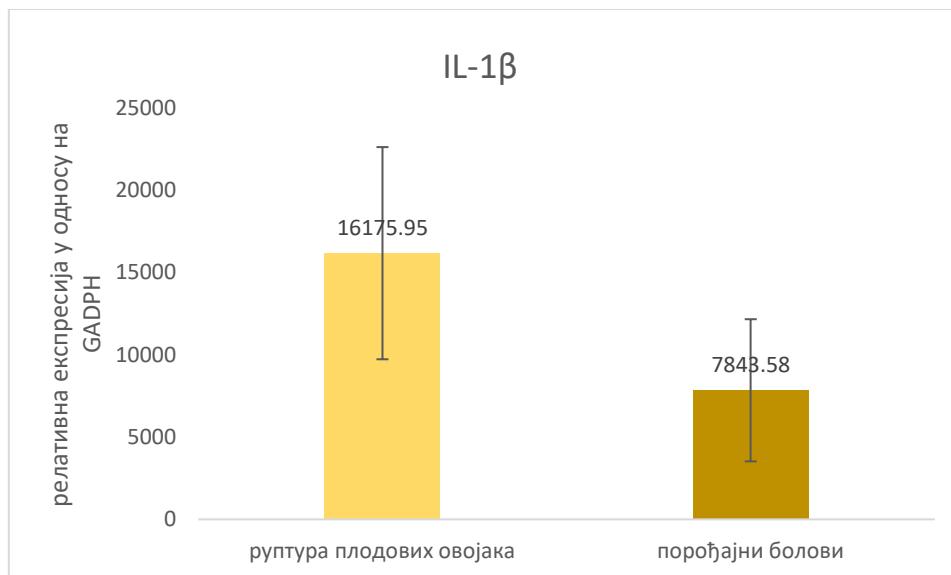
Запажамо интензивнију експресију GAL-3 у групи са позитивним цервиковагиналним брисевима у односу на групу без присутне цервиковагинална инфекције. Постоји статистички значајна разлика у експресији GAL-3 између испитиваних група ($p < 0.05$).

4.6.3. Експресија испитиваних цитокина у ткиву постелице у групи са руптуром плозових овојака и групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја

Релативна експресија испитиваних цитокина (у односу на GADPH) у ткиву постелице, како у групи са руптуром плозових овојака као доминантним знаком започињања порођаја, тако и у групи са порођајним боловима као доминантним симптомом започињања порођаја, приказана је на наступајућим графиконима.

4.6.3.1. Експресија IL-1 β у ткиву постелице у групи са руптуром плозових овојака и групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја

Релативна експресија IL-1 β (у односу на GADPH) у ткиву постелице у групи са руптуром плозових овојака и групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја, приказана је на графикону 4.22.

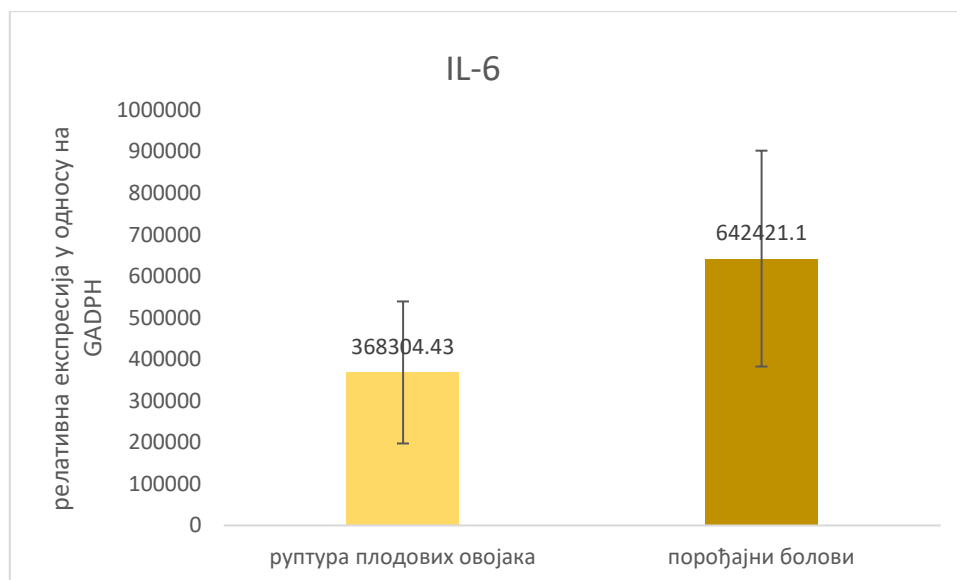


Графикон 4.22. Експресија IL-1 β у групи са руптуром плозових овојака и групи са порођајним боловима као иницијатора покретања порођаја. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна грешка (СГ)

Иако се запажа интензивнија експресија IL-1 β у групи са руптуром плозових овојака као иницијатора покретања порођаја, није утврђена статистички значајна разлика у експресији овог цитокина између испитиваних група.

4.6.3.2. Експресија IL-6 у ткиву постелице у групи са руптуром плодовых овојака и групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја

Релативна експресија IL-6 (у односу на GAPDH) у ткиву постелице у групи са руптуром плодовых овојака и групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја, приказана је на графикану 4.23.

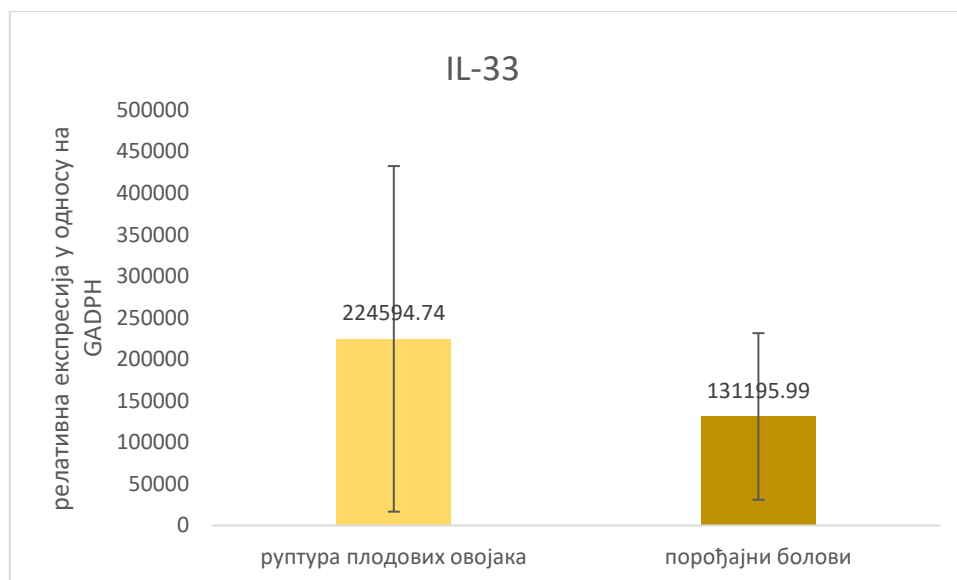


Графикон 4.23. Експресија IL-6 у групи са руптуром плодовых овојака и групи са порођајним боловима као иницијатора покретања порођаја. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна грешка (СГ)

Уочава се интензивнија експресија IL-6 у групи са порођајним боловима као иницијатора покретања порођаја, међутим није утврђена статистички значајна разлика у експресији овог цитокина између испитиваних група.

4.6.3.3. Експресија IL-33 у ткиву постелице у групи са руптуром плозових овојака и групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја

Релативна експресија IL-33 (у односу на GAPDH) у ткиву постелице у групи са руптуром плозових овојака и групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја, приказана је на графикану 4.24.

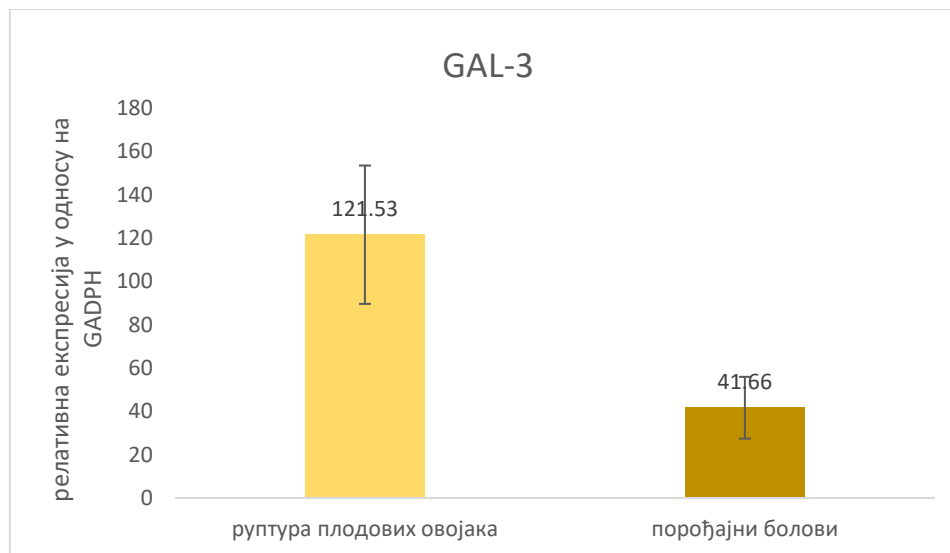


Графикон 4.24. Експресија IL-33 у групи са руптуром плозових овојака и групи са порођајним боловима као иницијатора покретања порођаја. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна грешка (СГ)

Уочава се интензивнија експресија IL-33 у групи са руптуром плозових овојака као иницијатора покретања порођаја, али није утврђена статистички значајна разлика у експресији овог цитокина између испитиваних група. Међутим, запажа се да су вредности обрнуто пропорционалне експресији IL-6 у комплементним групама.

4.6.3.4. Експресија GAL-3 у ткиву постелице у групи са руптуром плодовых овојака и групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја

Релативна експресија GAL-3 (у односу на GADPH) у ткиву постелице у групи са руптуром плодовых овојака и групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја, приказана је на графikonу 4.25.



Графикон 4.25. Експресија GAL-3 у групи са руптуром плодовых овојака и групи са порођајним боловима као иницијатора покретања порођаја. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна грешка (СГ)

Иако се запажа интензивнија експресија GAL-3 у групи са руптуром плодовых овојака као иницијатора покретања порођаја, није утврђена статистички значајна разлика у експресији овог цитокина између испитиваних група.

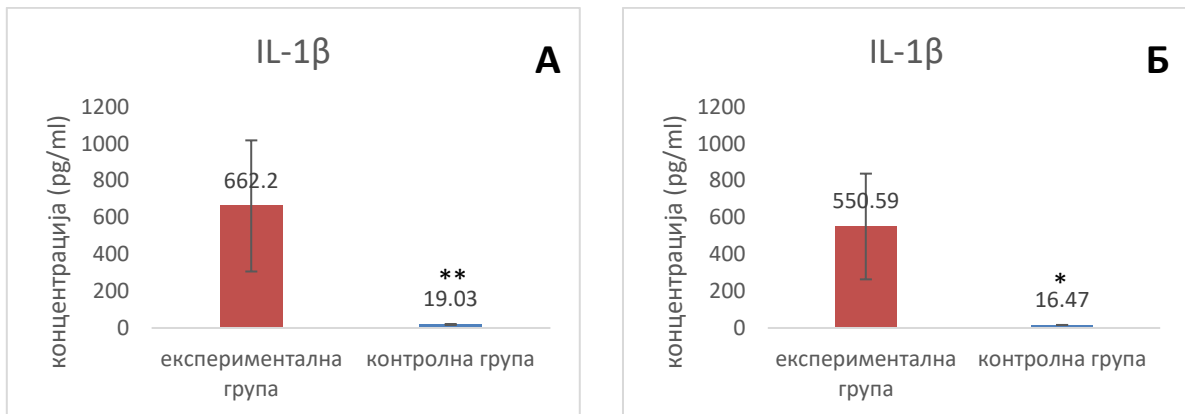
4.7. ELISA анализе

4.7.1. Концентрација испитиваних цитокина у серуму мајке и серуму пупчаника у експерименталној и контролној групи

Концентрација испитиваних цитокина у серуму мајке и серуму пупчаника, како у експерименталној, тако и у контролној групи, приказана је на наступајућим графиконима.

4.7.1.1. Концентрација IL-1 β у серуму мајке и серуму пупчаника у експерименталној и контролној групи

Концентрација IL-1 β у серуму мајке и серуму пупчаника, како у експерименталној, тако и у контролној групи, приказана је на графикону 4.26.

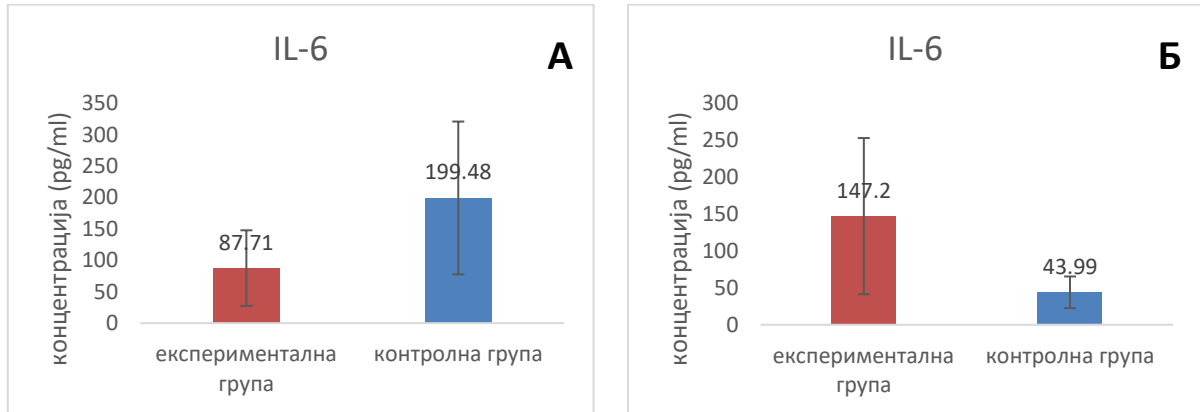


Графикон 4.26. Концентрација IL-1 β у серуму мајке (А) и серуму пупчаника (Б) у експерименталној и контролној групи. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна грешка (СГ). ** означава статистичку значајност ($p < 0.01$), док * означава статистичку значајност ($p < 0.05$) у односу на експерименталну групу

Запажа се значајно већа концентрација IL-1 β у серуму мајке и серуму пупчаника у експерименталној групи у односу на контролну групу. Такође, концентрације IL-1 β у серуму мајке су незнатно веће од концентрације IL-1 β у серуму пупчаника, како у експерименталној групи, тако и у контролној групи. Постоји статистички значајна разлика у концентрацији IL-1 β у серуму мајке ($p < 0.01$) као и у концентрацији IL-1 β у серуму пупчаника ($p < 0.05$) између испитиваних група.

4.7.1.2. Концентрација IL-6 у серуму мајке и серуму пупчаника у експерименталној и контролној групи

Концентрација IL-6 у серуму мајке и серуму пупчаника, како у експерименталној, тако и у контролној групи, приказана је на графикаону 4.27.

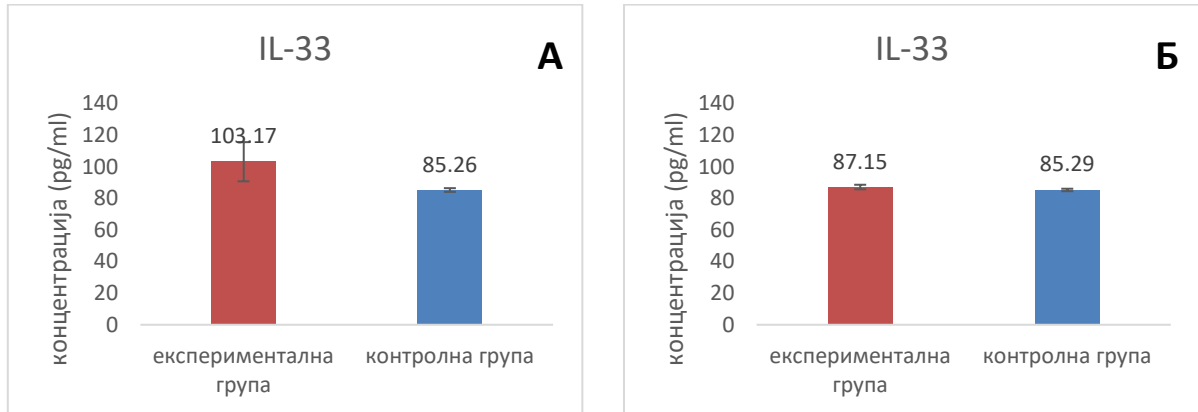


Графикон 4.27. Концентрација IL-6 у серуму мајке (А) и серуму пупчаника (Б) у експерименталној и контролној групи. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна грешка (СТ)

Концентрације IL-6 у серуму мајке и серуму пупчаника у експерименталној групи и контролној групи су обрнуто пропорционалне. Концентрација IL-6 у серуму мајке је знатно мања у експерименталној групи у односу на контролну групу. Док је концентрација IL-6 у серуму пупчаника знатно већа у експерименталној него у контролној групи. Упркос разликама у концентрацији IL-6 није утврђена статистички значајна разлика између испитиваних група.

4.7.1.3. Концентрација IL-33 у серуму мајке и серуму пупчаника у експерименталној и контролној групи

Концентрација IL-33 у серуму мајке и серуму пупчаника, како у експерименталној, тако и у контролној групи, приказана је на графикану 4.28.

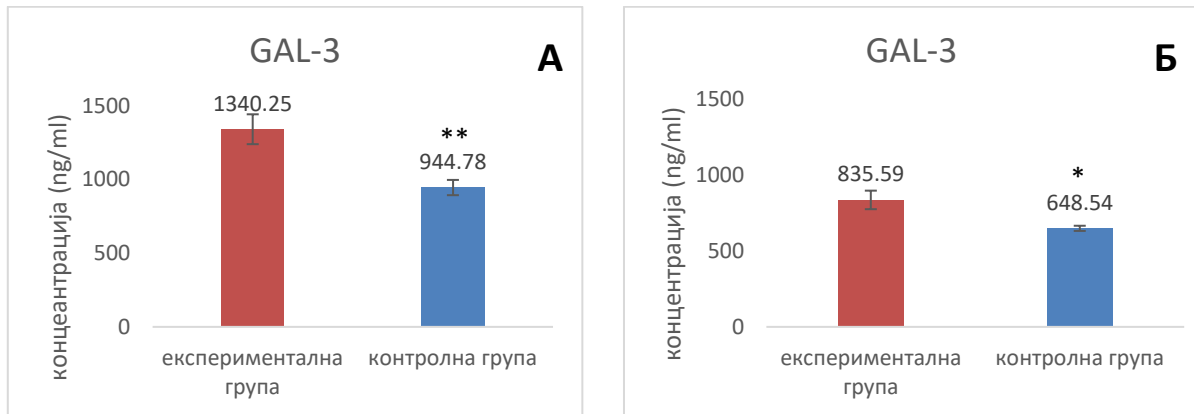


Графикон 4.28. Концентрација IL-33 у серуму мајке (А) и серуму пупчаника (Б) у експерименталној и контролној групи. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна грешка (СТ)

Концентрација IL-33 у серуму мајке је незнатно већа у експерименталној у односу на контролну групу. У серуму пупчаника концентрације IL-33 су идентичне у експерименталној и контролној групи. Није утврђена статистички значајна разлика у концентрацији IL-33 између испитиваних група како у серуму мајке тако и у серуму пупчаника.

4.7.1.4. Концентрација GAL-3 у серуму мајке и серуму пупчаника у експерименталној и контролној групи

Концентрација GAL-33 у серуму мајке и серуму пупчаника, како у експерименталној, тако и у контролној групи, приказана је на графикану 4.29.



Графикон 4.29. Концентрација GAL-3 у серуму мајке (А) и серуму пупчаника (Б) у експерименталној и контролној групи. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна грешка (СГ). ** означава статистичку значајност ($p < 0.01$), док * означава статистичку значајност ($p < 0.05$) у односу на експерименталну групу

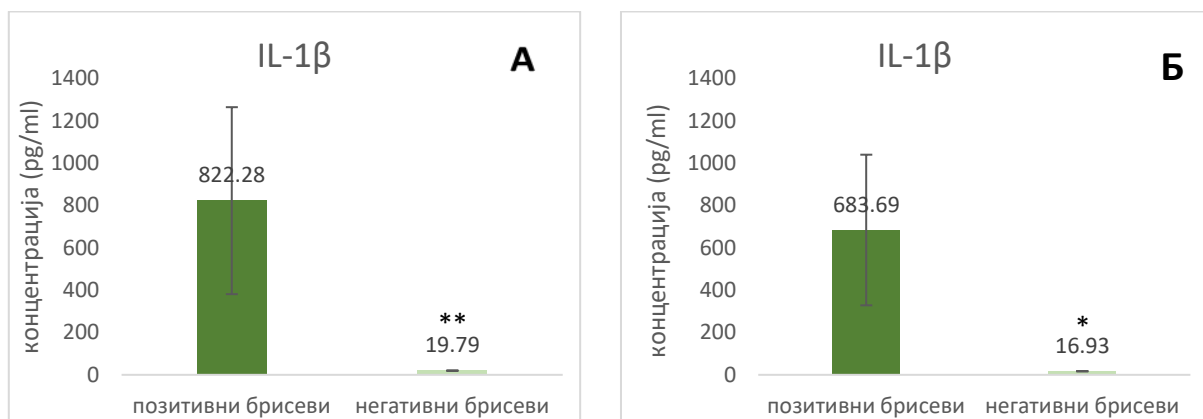
Запажа се већа концентрација GAL-3 у серуму мајке и серуму пупчаника у експерименталној групи у односу на контролну групу. Такође, концентрације GAL-3 су веће у обе испитиване групе у серуму мајке, у односу на серум пупчаника. Утврђена је статистички значајна разлика у концентрацији GAL-3 у серуму мајке ($p < 0.01$) као и у концентрацији IL-1 β у серуму пупчаника ($p < 0.05$) између испитиваних група.

4.7.2. Концентрација испитиваних цитокина у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са и групи без присутне цервиковагинална инфекције

Концентрација испитиваних цитокина у серуму мајке и серуму пупчаника, како у групи са, тако и у групи без присутне цервиковагинална инфекције, приказана је на наступајућим графиконима.

4.7.2.1. Концентрација IL-1 β у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са и групи без присутне цервиковагинална инфекције

Концентрација IL-1 β у серуму мајке и серуму пупчаника, како у групи са, тако и у групи без присутне цервиковагинална инфекције, приказана је на графикону 4.30.

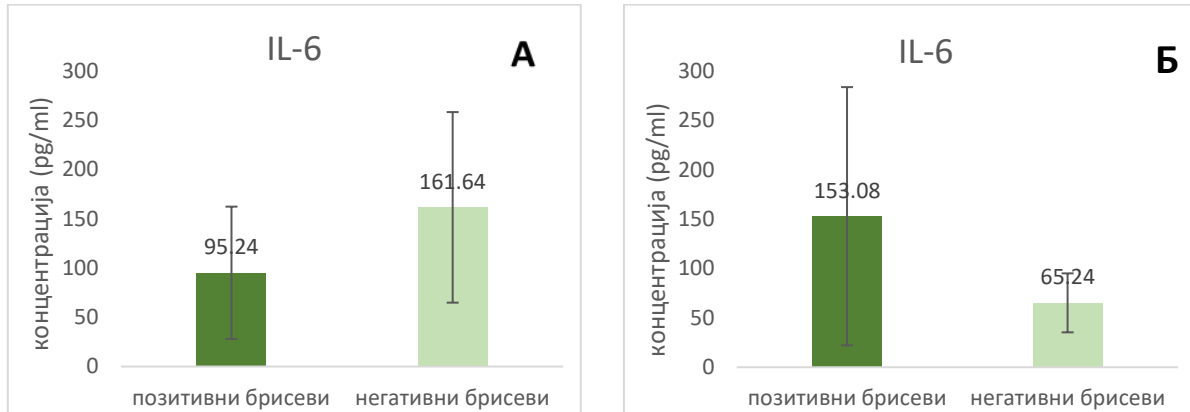


Графикон 4.30. Концентрација IL-1 β у серуму мајке (А) и серуму пупчаника (Б) у групи са и групи без присутне цервиковагинална инфекције. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна грешка (СГ). ** означава статистичку значајност ($p < 0.01$), док * означава статистичку значајност ($p < 0.05$) у односу на групу са цервиковагинална инфекцијом

Запажа се значајно већа концентрација IL-1 β у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са цервиковагинална инфекцијом у односу на групу без присутне цервиковагинална инфекције. Такође, концентрације IL-1 β у серуму мајке су незнатно веће од концентрације IL-1 β у пупчаника како у групи са цервиковагинална инфекцијом, тако и у групи без присутне цервиковагинална инфекције. Постоји статистички значајна разлика у концентрацији IL-1 β у серуму мајке ($p < 0.01$) као и у концентрацији IL-1 β у серуму пупчаника ($p < 0.05$) између испитиваних група.

4.7.2.2. Концентрација IL-6 у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са и групи без присутне цервикавагинална инфекције

Концентрација IL-6 у серуму мајке и серуму пупчаника, како у групи са, тако и у групи без присутне цервикавагинална инфекције, приказана је на графикаону 4.31.

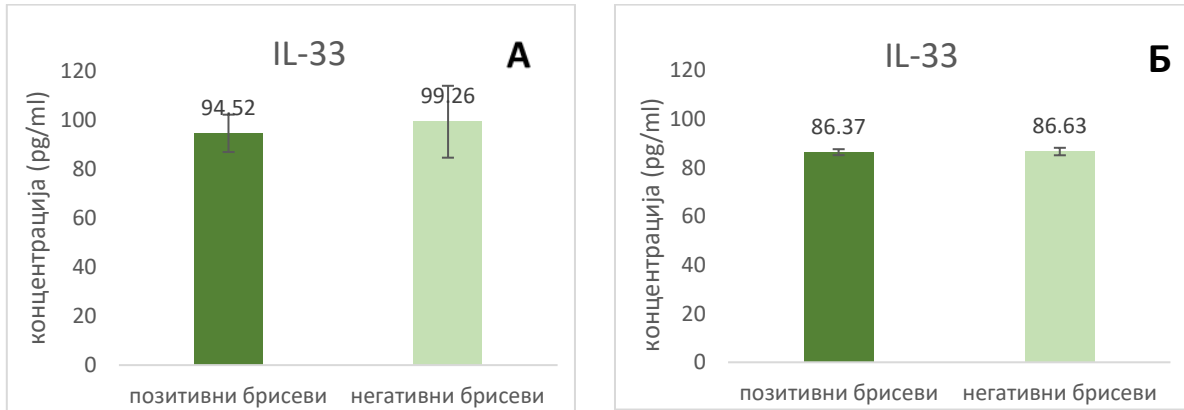


Графикон 4.31. Концентрација IL-6 у серуму мајке (А) и серуму пупчаника (Б) у групи са и групи без присутне цервикавагинална инфекције. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна грешка (СТ)

Концентрације IL-6 у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са и групи без присутне цервикавагинална инфекције су обрнуто пропорционалне. Концентрација IL-6 у серуму мајке је знатно мања у групи са присутном цервикавагинална инфекцијом у односу на групу без цервикавагинална инфекције. Док је концентрација IL-6 у серуму пупчаника знатно већа у групи са присутном цервикавагинална инфекцијом у односу на групу без. Упркос разликама у концентрацији IL-6 није утврђена статистички значајна разлика између испитиваних група.

4.7.2.3. Концентрација IL-33 у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са и групи без присутне цервикавагинална инфекције

Концентрација IL-33 у серуму мајке и серуму пупчаника, како у групи са, тако и у групи без присутне цервикавагинална инфекције, приказана је на графикону 4.32.

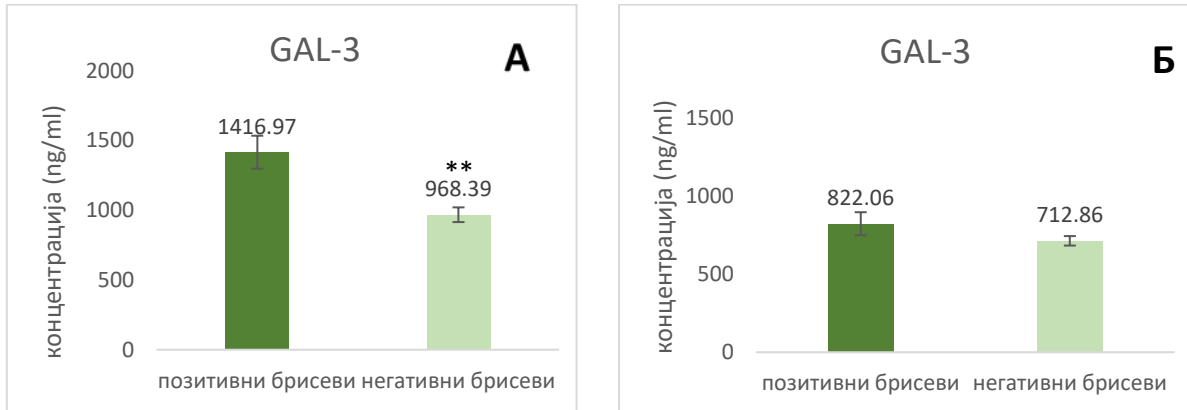


Графикон 4.32. Концентрација IL-33 у серуму мајке (А) и серуму пупчаника (Б) у групи са и групи без присутне цервикавагинална инфекције. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна грешка (СТ)

Концентрација IL-33 у серуму мајке је незнатно већа у групи са у односу на групу без присутне цервикавагинална инфекције. У серуму пупчаника концентрације IL-33 су идентичне. Није утврђена статистички значајна разлика у концентрацији IL-33 између испитиваних група како у серуму мајке тако и у серуму пупчаника.

4.7.2.4. Концентрација GAL-3 у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са и групи без присутне цервикавагинална инфекције

Концентрација GAL-33 у серуму мајке и серуму пупчаника, како у групи са, тако и у групи без присутне цервикавагинална инфекције, приказана је на графикаону 4.33.



Графикон 4.33. Концентрација GAL-3 у серуму мајке (А) и серуму пупчаника (Б) у групи са и групи без присутне цервикавагинална инфекције. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) ± стандардна грешка (СГ). ** означава статистичку значајност ($p < 0.01$) у односу на групу са цервикавагинална инфекцијом

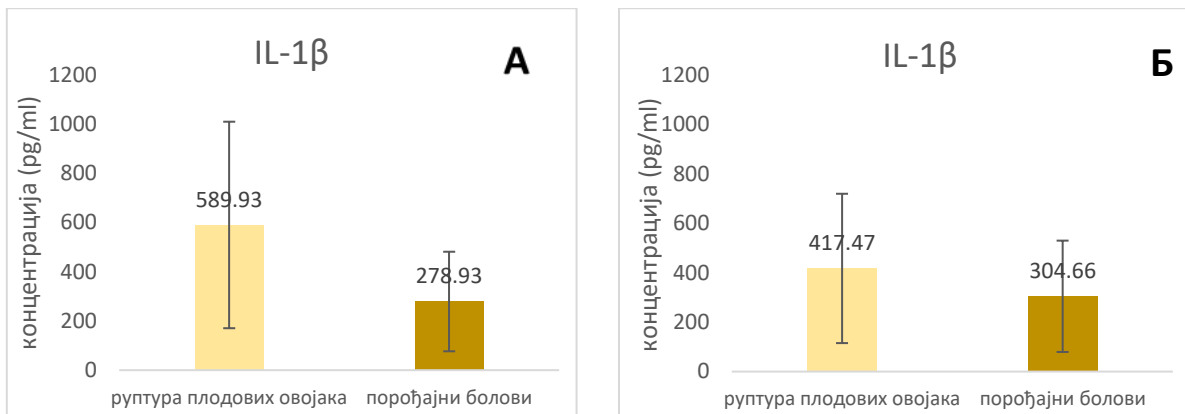
Запажа се већа концентрација GAL-3 у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са цервикавагинална инфекцијом. Такође, концентрације GAL-3 су веће у обе испитиване групе у серуму мајке у односу на серум пупчаника. Међутим, утврђена је статистички значајна разлика у концентрацији GAL-3 само у серуму мајке ($p < 0.01$) између испитиваних група.

4.7.3. Концентрација испитиваних цитокина у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са руптуром плозових овојака и групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја

Концентрација испитиваних цитокина у серуму мајке и серуму пупчаника, како у групи са руптуром плозових овојака и групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја, приказана је на наступајућим графиконима.

4.7.3.1. Концентрација IL-1 β у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са руптуром плозових овојака и групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја

Концентрација IL-1 β у серуму мајке и серуму пупчаника, како у групи са руптуром плозових овојака, тако и у групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја, приказана је на графикону 4.34.

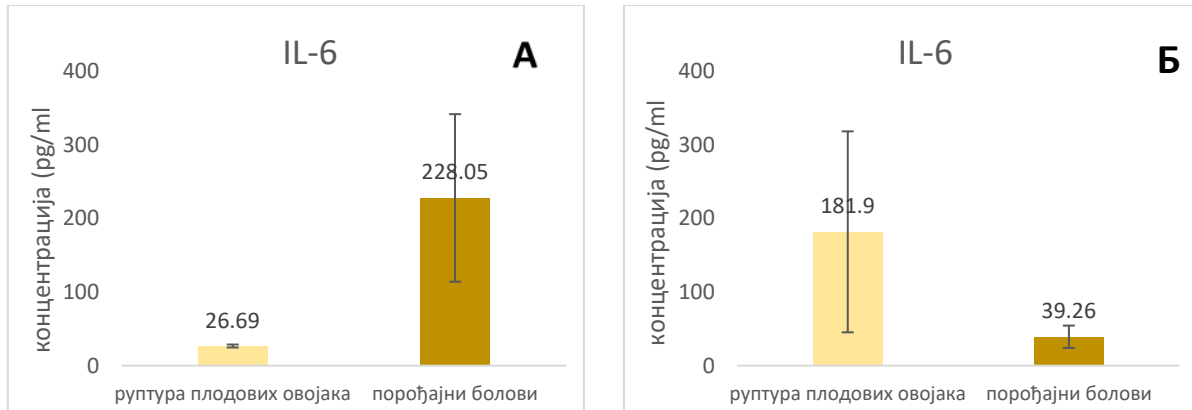


Графикон 4.34. Концентрација IL-1 β у серуму мајке (А) и серуму пупчаника (Б) у групи са руптуром плозових овојака и групи са порођајним боловима. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна грешка (СГ)

Иако је концентрација IL-1 β како у серуму мајке, тако и у серуму пупчаника, већа у групи са руптуром плозових овојака у односу на групу са порођајним боловима, није утврђена статистички значајна разлика у концентрацији IL-1 β између испитиваних група.

4.7.3.2. Концентрација ИЛ-6 у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са руптуром плозових овојака и групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја

Концентрација ИЛ-6 у серуму мајке и серуму пупчаника, како у групи са руптуром плозових овојака, тако и у групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја, приказана је на графикану 4.35.

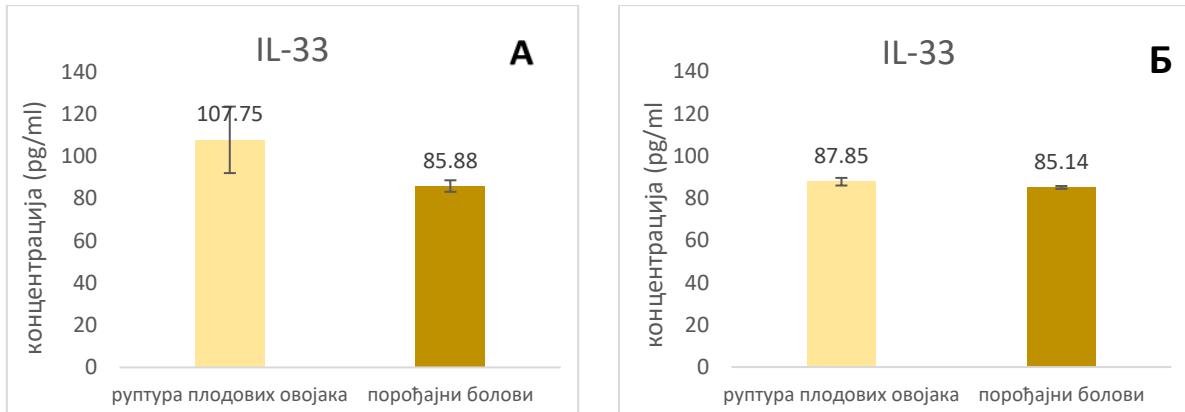


Графикон 4.35. Концентрација ИЛ-6 у серуму мајке (А) и серуму пупчаника (Б) у групи са руптуром плозових овојака и групи са порођајним боловима. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) ± стандардна грешка (СГ)

Концентрација ИЛ-6 у серуму мајке је знатно већа у групи са порођајним боловима, у односу на групу са руптуром плозових овојака, за разлику од концентрације ИЛ-6 у серуму пупчаника, која је израженија у групи са руптуром плозових овојака. Међутим, није утврђена статистички значајна разлика у концентрацији ИЛ-6 између испитиваних група.

4.7.3.3. Концентрација IL-33 у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са руптуром плодovих овојака и групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја

Концентрација IL-33 у серуму мајке и серуму пупчаника, како у групи са руптуром плодovих овојака, тако и у групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја, приказана је на графикону 4.36.

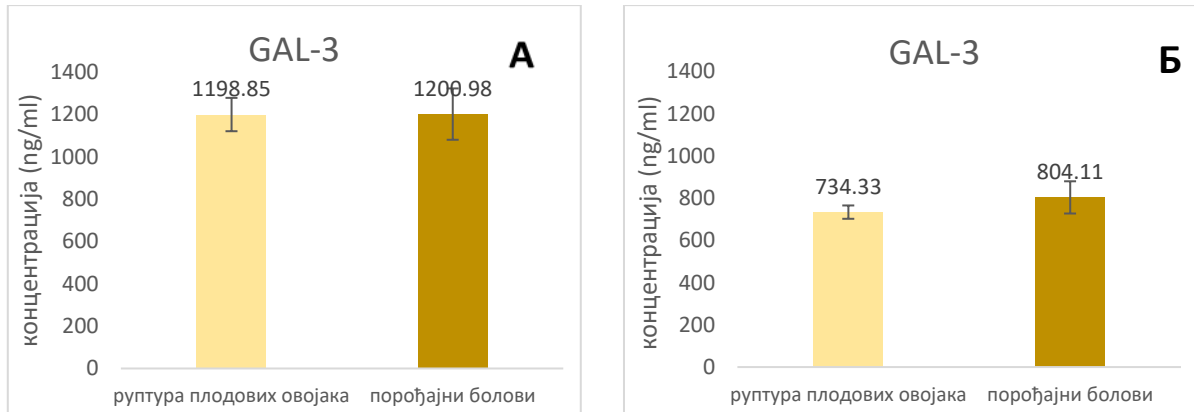


Графикон 4.36. Концентрација IL-33 у серуму мајке (А) и серуму пупчаника (Б) у групи са руптуром плодovих овојака и групи са порођајним боловима. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) ± стандардна грешка (СТ)

Концентрација IL-33 у серуму мајке је већа у групи са руптуром плодovих овојака у односу на групу са порођајним боловима. Концентрација IL-33 у серуму пупчаника је идентична у обе испитиване групе. Није утврђена статистички значајна разлика у концентрацији IL-33 између испитиваних група.

4.7.3.4. Концентрација GAL-33 у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са руптуром плозових овојака и групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја

Концентрација GAL-33 у серуму мајке и серуму пупчаника, како у групи са руптуром плозових овојака, тако и у групи са порођајним боловима као доминантним знаком/симптомом започињања порођаја, приказана је на графикану 4.37.



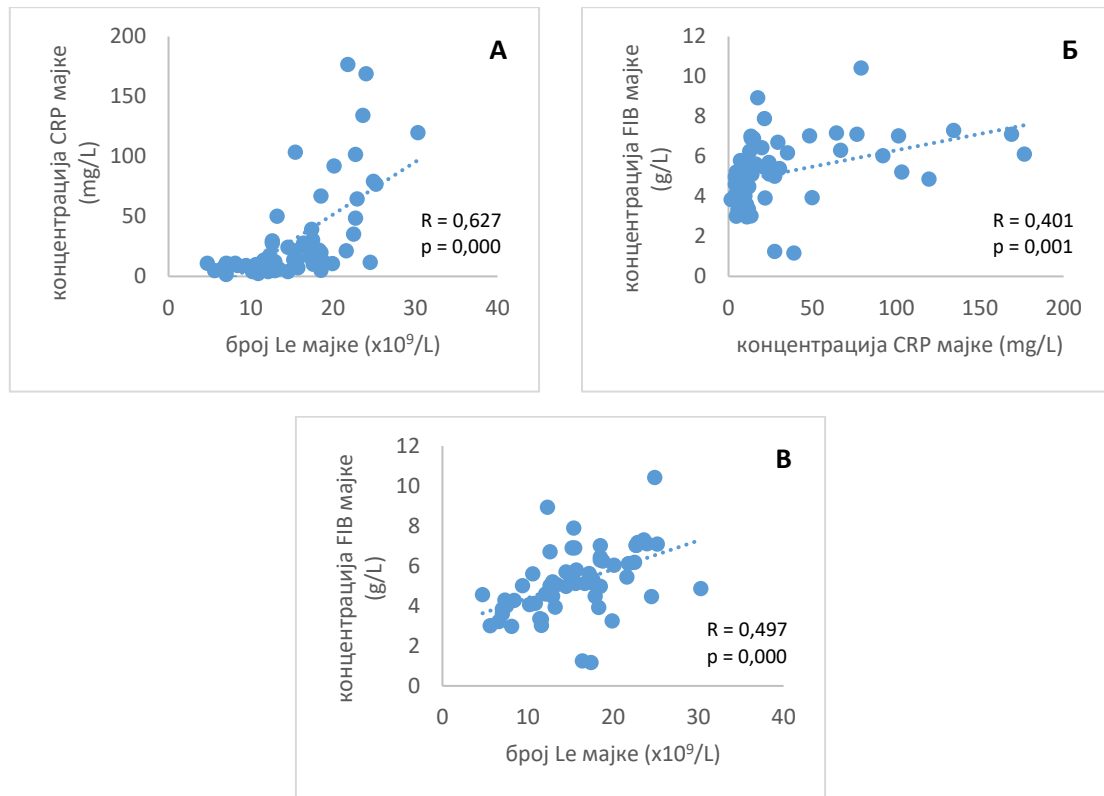
Графикон 4.37. Концентрација GAL-3 у серуму мајке (А) и серуму пупчаника (Б) у групи са руптуром плозових овојака и групи са порођајним боловима. Вредности су изражене као средња вредност (средња вредност) \pm стандардна грешка (СТ)

Концентрација GAL-3 у серуму мајке је већа и у групи са руптуром плозових овојака и у групи са порођајним боловима, у односу на концентрацију GAL-3 у серуму пупчаника. Међутим, концентрација GAL-3 је идентична у серуму мајке међу испитиваним групама, као и у серуму пупчаника у обе испитиване групе. Статистички значајна разлика у концентрацији IL-33 између испитиваних група није утврђена.

4.8. Анализа повезаности биохемијских параметара инфламације и испитиваних цитокина у серуму мајке, серуму пупчаника и ткиву постељице

4.8.1. Постоји међусобна корелација између биохемијских параметара инфламације из серума мајке

Анализа међусобне повезаности биохемијских параметара инфламације из серума мајке приказана је на слици 4.8.

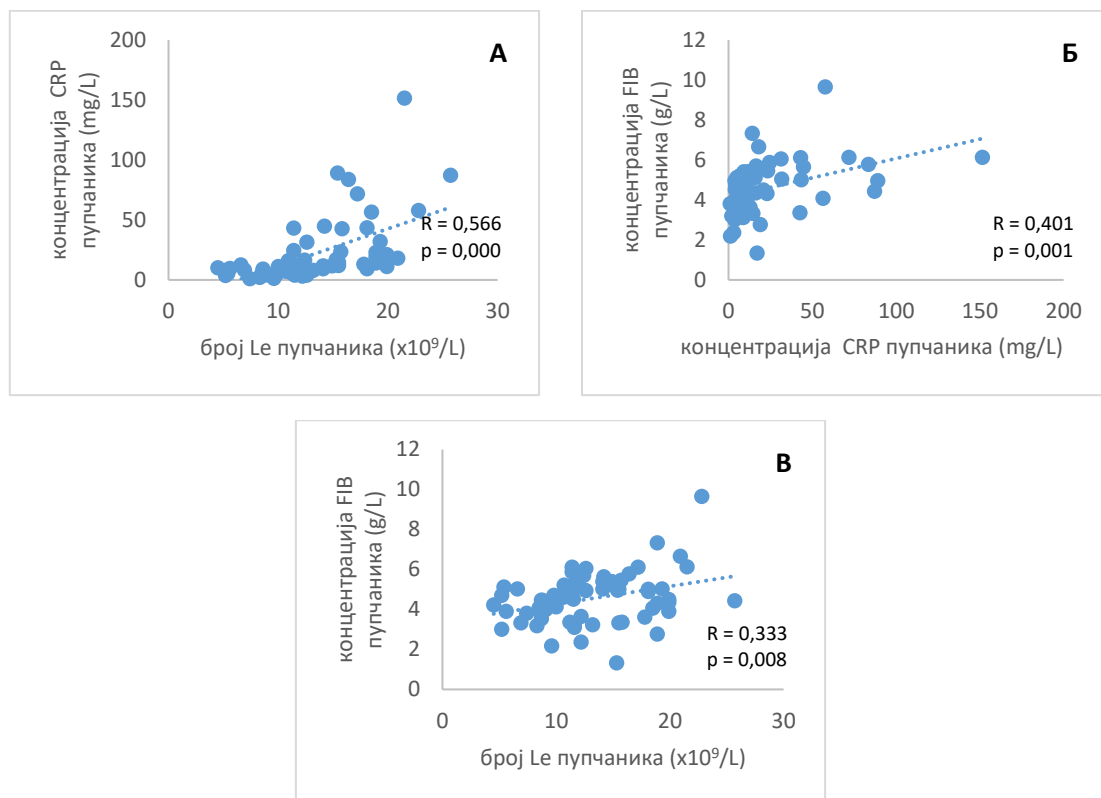


Слика 4.8. Анализа међусобне повезаности броја Le и концентрације CRP из серума мајке (А), концентрације CRP и концентрације FIB из серума мајке (Б) и броја Le и концентрације FIB из серума мајке (В)

Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између броја Le и концентрације CRP из серума мајке ($R=0.627$, $p=0.000$), као и умерена, позитивна корелација између концентрације CRP и концентрације FIB из серума мајке ($R=0.401$, $p=0.001$) и броја Le и концентрације FIB из серума мајке ($R=0.497$, $p=0.000$).

4.8.2. Постоји међусобна корелација између биохемијских параметара инфламације из серума пупчаника

Анализа међусобне повезаности биохемијских параметара инфламације из серума пупчаника приказана је на слици 4.9.

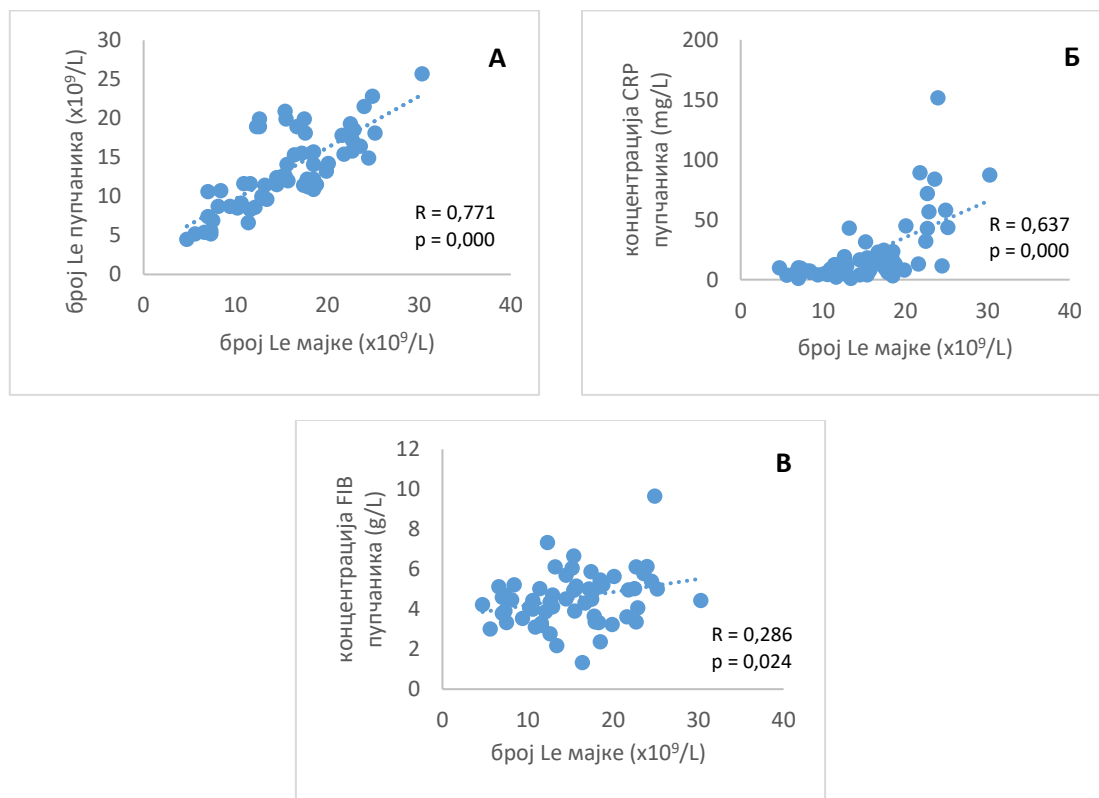


Слика 4.9. Анализа међусобне повезаности броја Le и концентрације CRP из серума пупчаника (А), концентрације CRP и концентрације FIB из серума пупчаника (Б) и броја Le и концентрације FIB из серума пупчаника (В)

Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између броја Le и концентрације CRP из серума пупчаника ($R=0.566$, $p=0.000$), као и умерена, позитивна корелација између концентрације CRP и концентрације FIB из серума пупчаника ($R=0.401$, $p=0.001$) и броја Le и концентрације FIB из серума пупчаника ($R=0.333$, $p=0.008$).

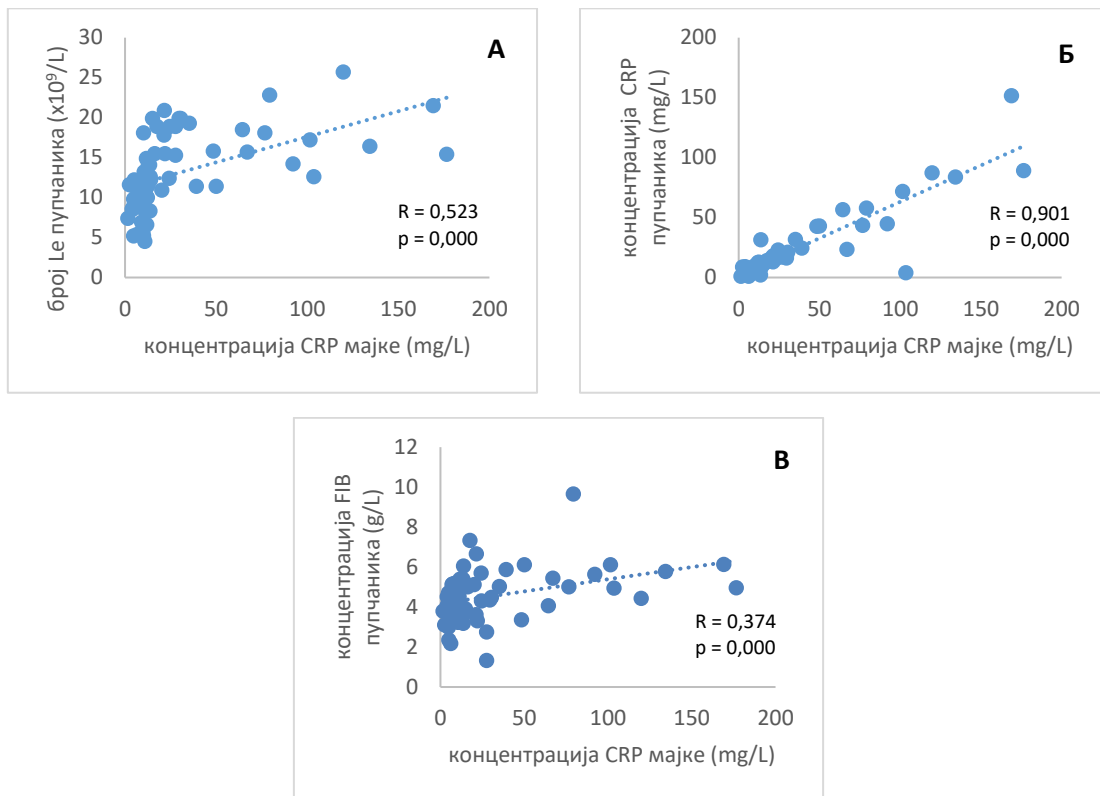
4.8.3. Постоји међусобна корелација између биохемијских параметара инфламације из серума мајке са између биохемијским параметрима инфламације из серума пупчаника

Анализа међусобне повезаности биохемијских параметара инфламације из серума мајке и серума пупчаника приказана је на слици 4.10., 4.11. и 4.12.



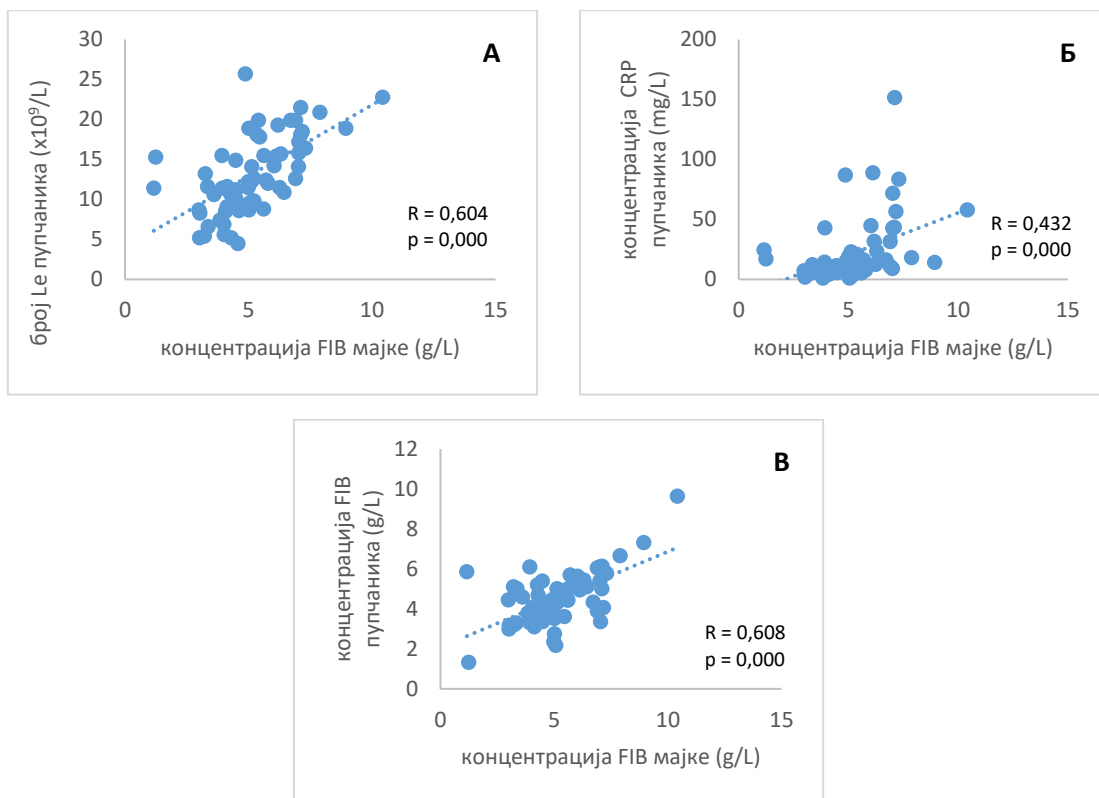
Слика 4.10. Анализа међусобне повезаности броја Le из серума мајке и броја Le из серума пупчаника (А), концентрације CRP из серума пупчаника (Б) и концентрације FIB из серума пупчаника (В)

Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између броја Le из серума мајке и броја Le из серума пупчаника ($R=0.771$, $p=0.000$), јака, позитивна корелација између броја Le из серума мајке и концентрације CRP из серума пупчаника ($R=0.637$, $p=0.000$), као и слаба, позитивна корелације између броја Le из серума мајке и концентрације FIB из серума пупчаника ($R=0.286$, $p=0.024$).



Слика 4.11. Анализа међусобне повезаности концентрације CRP из серума мајке и броја Le из серума пупчаника (А), концентрације CRP из серума пупчаника (Б) и концентрације FIB из серума пупчаника (В)

Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између концентрације CRP из серума мајке и броја Le из серума пупчаника ($R=0.523$, $p=0.000$), јака, позитивна корелација између концентрације CRP из серума мајке и концентрације CRP из серума пупчаника ($R=0.901$, $p=0.000$), као и умерена, позитивна корелације између концентрације CRP из серума мајке и концентрације FIB из серума пупчаника ($R=0.374$, $p=0.024$).

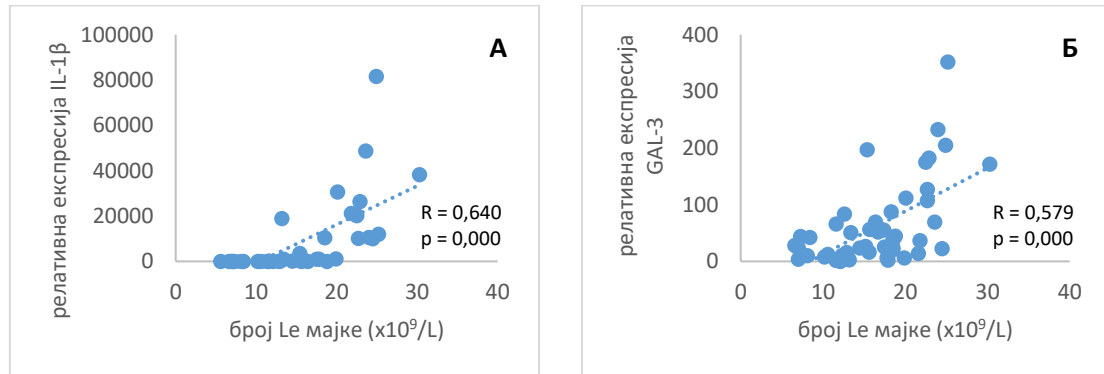


Слика 4.12. Анализа међусобне повезаности концентрације FIB из серума мајке и броја Le из серума пупчаника (А), концентрације CRP из серума пупчаника (Б) и концентрације FIB из серума пупчаника (В)

Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између концентрације FIB из серума мајке и броја Le из серума пупчаника ($R=0.604$, $p=0.000$), умерена, позитивна корелација између концентрације FIB из серума мајке и концентрације CRP из серума пупчаника ($R=0.432$, $p=0.000$), као и јака, позитивна корелације између концентрације FIB из серума мајке и концентрације FIB из серума пупчаника ($R=0.608$, $p=0.000$).

4.8.4. Постоји корелација између биохемијских параметара инфламације из серума мајке и релативне експресије IL-1 β и GAL-3 у ткиву постелице

Анализа међусобне повезаности биохемијских параметара инфламације из серума мајке и релативне експресије испитиваних цитокина (PCR) у ткиву постелице приказана је на слици 4.13., 4.14. и 4.15.

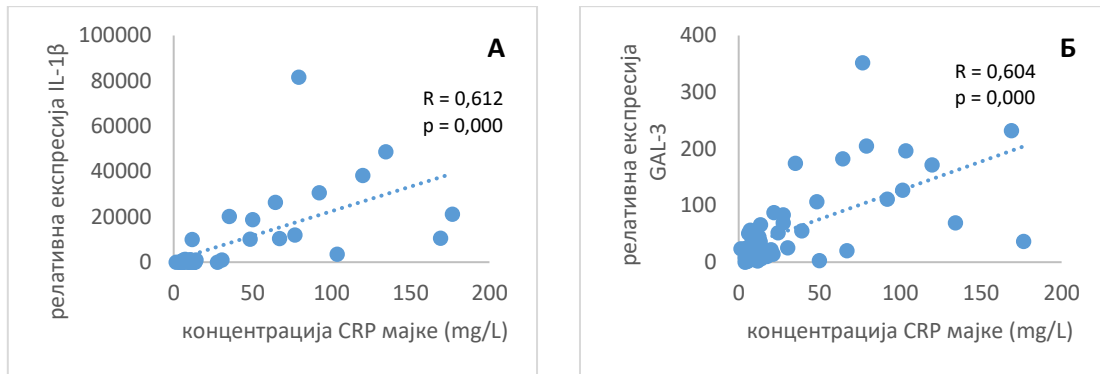


Слика 4.13. Анализа међусобне повезаности броја Le из серума мајке и релативне експресије IL-1 β (PCR) (А), као и и релативне експресије GAL-3 (PCR) (Б) у ткиву постелице

Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између броја Le из серума мајке и релативне експресије IL-1 β у ткиву постелице ($R=0.640$, $p=0.000$), као и јака, позитивна корелација између броја Le из серума мајке и релативне експресије GAL-3 у ткиву постелице ($R=0.579$, $p=0.000$).

Није уочена повезаност између броја Le из серума мајке и релативне експресије IL-6 у ткиву постелице ($R=0.183$, $p=0.257$), нити између броја Le из серума мајке и релативне експресије IL-3 у ткиву постелице ($R=0.077$, $p=0.626$).

Наведене вредности нису графички приказане.

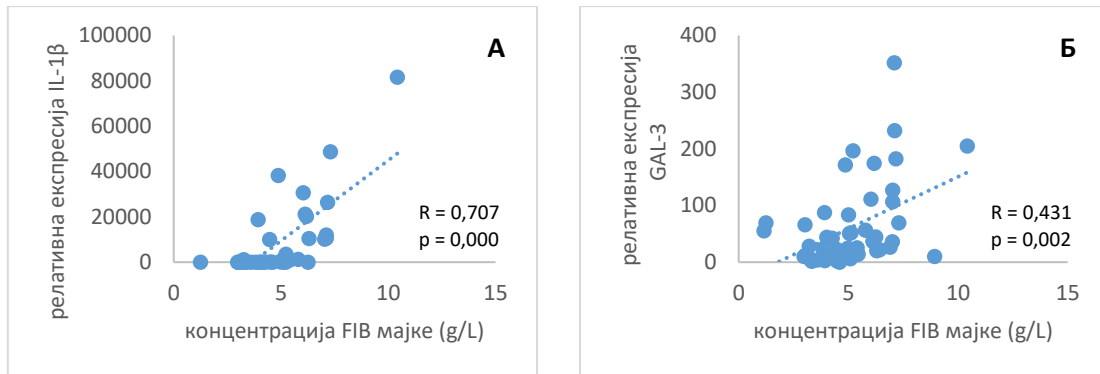


Слика 4.14. Анализа међусобне повезаности концентрације CRP из серума мајке и релативне експресије IL-1β (PCR) (А), као и и релативне експресије GAL-3 (PCR) (Б) у ткиву постељице

Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између концентрације CRP из серума мајке и релативне експресије IL-1β у ткиву постељице ($R=0.612$, $p=0.000$), као и јака, позитивна корелација између концентрације CRP из серума мајке и релативне експресије GAL-3 у ткиву постељице ($R=0.604$, $p=0.000$).

Није уочена повезаност између концентрације CRP из серума мајке и релативне експресије IL-6 у ткиву постељице ($R=0.165$, $p=0.309$), нити између концентрације CRP из серума мајке и релативне експресије IL-3 у ткиву постељице ($R=0.032$, $p=0.842$).

Наведене вредности нису графички приказане.



Слика 4.15. Анализа међусобне повезаности концентрације FIB из серума мајке и релативне експресије IL-1 β (PCR) (А), као и и релативне експресије GAL-3 (PCR) (Б) у ткиву постелице

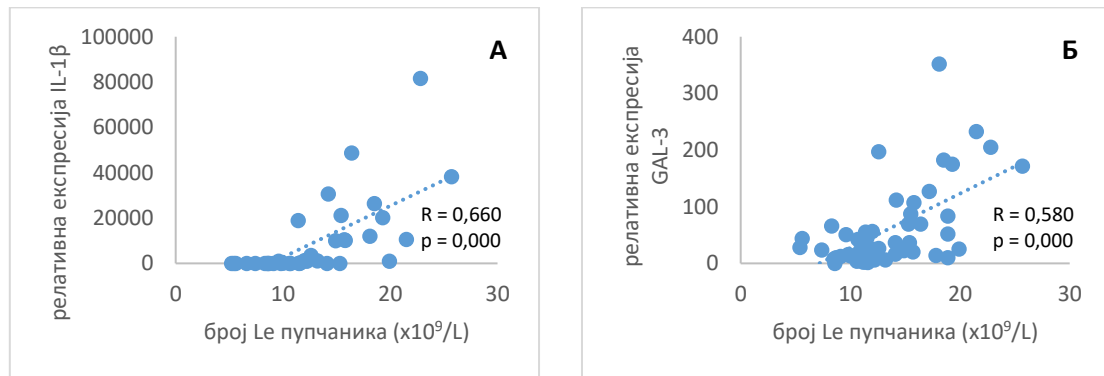
Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између концентрације FIB из серума мајке и релативне експресије IL-1 β у ткиву постелице ($R=0.707$, $p=0.000$), као и умерена, позитивна корелација између концентрације FIB из серума мајке и релативне експресије GAL-3 у ткиву постелице ($R=0.431$, $p=0.002$).

Није уочена повезаност између концентрације FIB из серума мајке и релативне експресије IL-6 у ткиву постелице ($R=0.152$, $p=0.351$), нити између концентрације FIB из серума мајке и релативне експресије IL-3 у ткиву постелице ($R=0.214$, $p=0.174$).

Наведене вредности нису графички приказане.

4.8.5. Постоји корелација између биохемијских параметара инфламације из серума пупчаника и релативне експресије IL-1 β и GAL-3 у ткиву постелице

Анализа међусобне повезаности биохемијских параметара инфламације из серума пупчаника и релативне експресије испитиваних цитокина (PCR) у ткиву постелице приказана је на слици 4.16., 4.17. и 4.18.

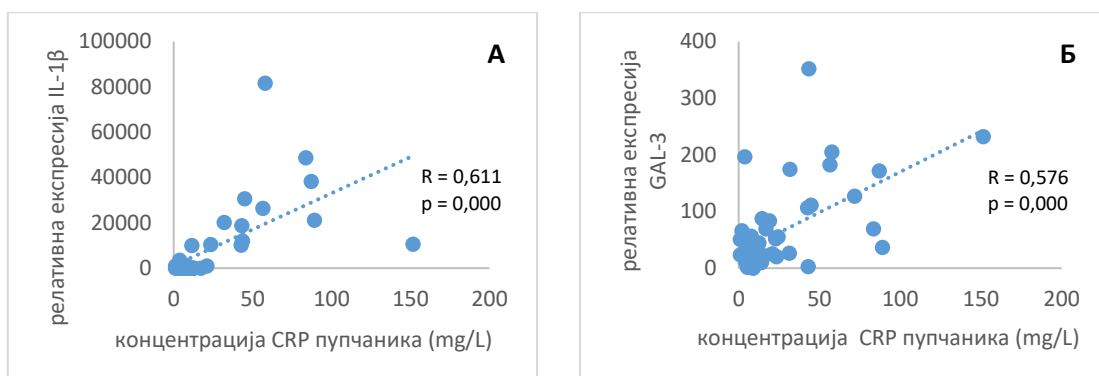


Слика 4.16. Анализа међусобне повезаности броја Le из серума пупчаника и релативне експресије IL-1 β (PCR) (А), као и и релативне експресије GAL-3 (PCR) (Б) у ткиву постелице

Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између броја Le из серума пупчаника и релативне експресије IL-1 β у ткиву постелице ($R=0.660$, $p=0.000$), као и јака, позитивна корелација између броја Le из серума пупчаника и релативне експресије GAL-3 у ткиву постелице ($R=0.580$, $p=0.000$).

Није уочена повезаност између броја Le из серума пупчаника и релативне експресије IL-6 у ткиву постелице ($R=0.132$, $p=0.417$), нити између броја Le из серума пупчаника и релативне експресије IL-3 у ткиву постелице ($R=0.081$, $p=0.612$).

Наведене вредности нису графички приказане.

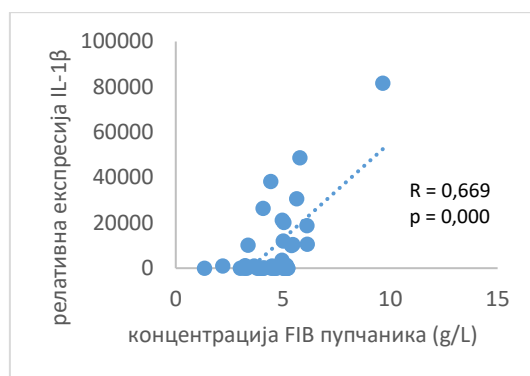


Слика 4.17. Анализа међусобне повезаности концентрације CRP из серума пупчаника и релативне експресије IL-1 β (PCR) (А), као и и релативне експресије GAL-3 (PCR) (Б) у ткиву постељице

Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између концентрације CRP из серума пупчаника и релативне експресије IL-1 β у ткиву постељице ($R=0.611$, $p=0.000$), као и јака, позитивна корелација између концентрације CRP из серума пупчаника и релативне експресије GAL-3 у ткиву постељице ($R=0.576$, $p=0.000$).

Није уочена повезаност између концентрације CRP из серума пупчаника и релативне експресије IL-6 у ткиву постељице ($R=0.179$, $p=0.269$), нити између концентрације CRP из серума пупчаника и релативне експресије IL-3 у ткиву постељице ($R=0.093$, $p=0.560$).

Наведене вредности нису графички приказане.



Слика 4.18. Анализа међусобне повезаности концентрације FIB из серума пупчаника и релативне експресије IL-1 β (PCR) у ткиву постељице

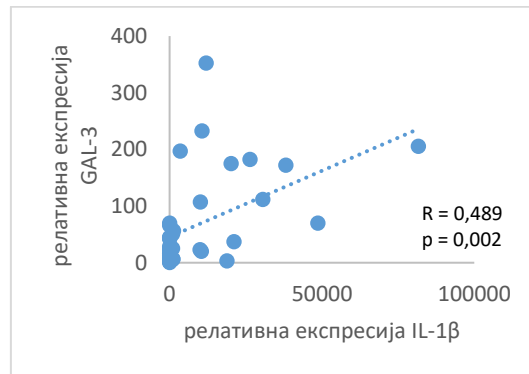
Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између концентрације FIB из серума пупчаника и релативне експресије IL-1 β у ткиву постељице ($R=0.669$, $p=0.000$).

Није уочена повезаност између концентрације FIB из серума пупчаника и релативне експресије IL-6 у ткиву постељице ($R=0.153$, $p=0.345$), нити између концентрације FIB из серума мајке и релативне експресије IL-3 у ткиву постељице ($R=0.050$, $p=0.752$). Такође није уочена ни повезаност између концентрације FIB из серума пупчаника и релативне експресије GAL-3 у ткиву постељице ($R=0.261$, $p=0.073$).

Наведене вредности нису графички приказане.

4.8.6. Постоји корелација између релативне експресије IL-1 β и релативне експресије GAL-3 у ткиву постелице

Анализа међусобне повезаности релативне експресије испитиваних цитокина (PCR) у ткиву постелице приказана је на слици 4.19.



Слика 4.19. Анализа међусобне повезаности релативне експресије IL-1 β (PCR) и релативне експресије GAL-3 (PCR) у ткиву постелице

Анализа показује да постоји умерена, позитивна корелација између релативне експресије IL-1 β и релативне експресије GAL-3 у ткиву постелице ($R=0.489$, $p=0.002$).

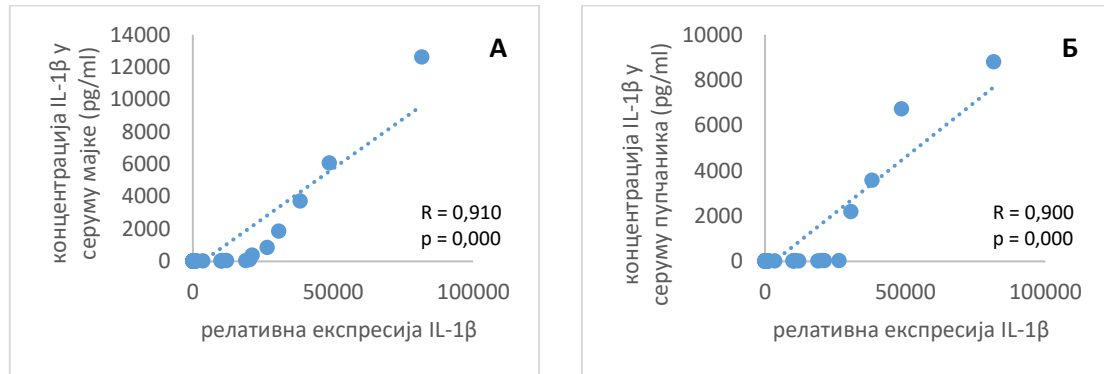
Није уочена повезаност између релативне експресије IL-1 β и релативне експресије IL-6 у ткиву постелице ($R=0.106$, $p=0.585$), као ни релативне експресије IL-1 β и релативне експресије IL-33 у ткиву постелице ($R=0.123$, $p=0.525$)

Такође, не постоји корелација између релативне експресије IL-6 и релативне експресије IL-33 у ткиву постелице ($R=0.006$, $p=0.973$), као ни релативне експресије IL-6 и релативне експресије GAL-3 у ткиву постелице ($R=0.137$, $p=0.413$). Испитивање повезаности релативне експресије IL-33 и релативне експресије GAL-3 у ткиву постелице, показује да нема повезаности ($R=0.071$, $p=0.669$) између два испитивана параметра.

Наведене вредности нису графички приказане.

4.8.7. Постоји корелација између релативне експресије IL-1 β у ткиву постелице и концентрације IL-1 β из серума мајке и серума пупчаника

Анализа међусобне повезаности релативне експресије испитиваних цитокина (PCR) у ткиву постелице са концентрацијама испитиваних цитокина (ELISA) из серума мајке и серума пупчаника приказана је на слици 4.20.



Слика 4.20. Анализа међусобне повезаности релативне експресије IL-1 β (PCR) у ткиву постелице и концентрације IL-1 β (ELISA) у серуму мајке (А) и серуму пупчаника (Б)

Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између релативне експресије IL-1 β у ткиву постелице и концентрације IL-1 β у серуму мајке ($R=0.910$, $p=0.000$), као и јака, позитивна корелација између релативне експресије IL-1 β у ткиву постелице и концентрације IL-1 β у серуму пупчаника ($R=0.900$, $p=0.000$).

Није утврђено присуство корелације између релативне експресије GAL-3 у ткиву постелице и концентрације GAL-3 у серуму мајке ($R=0.197$, $p=0.180$) и серуму пупчаника ($R=0.087$, $p=0.557$).

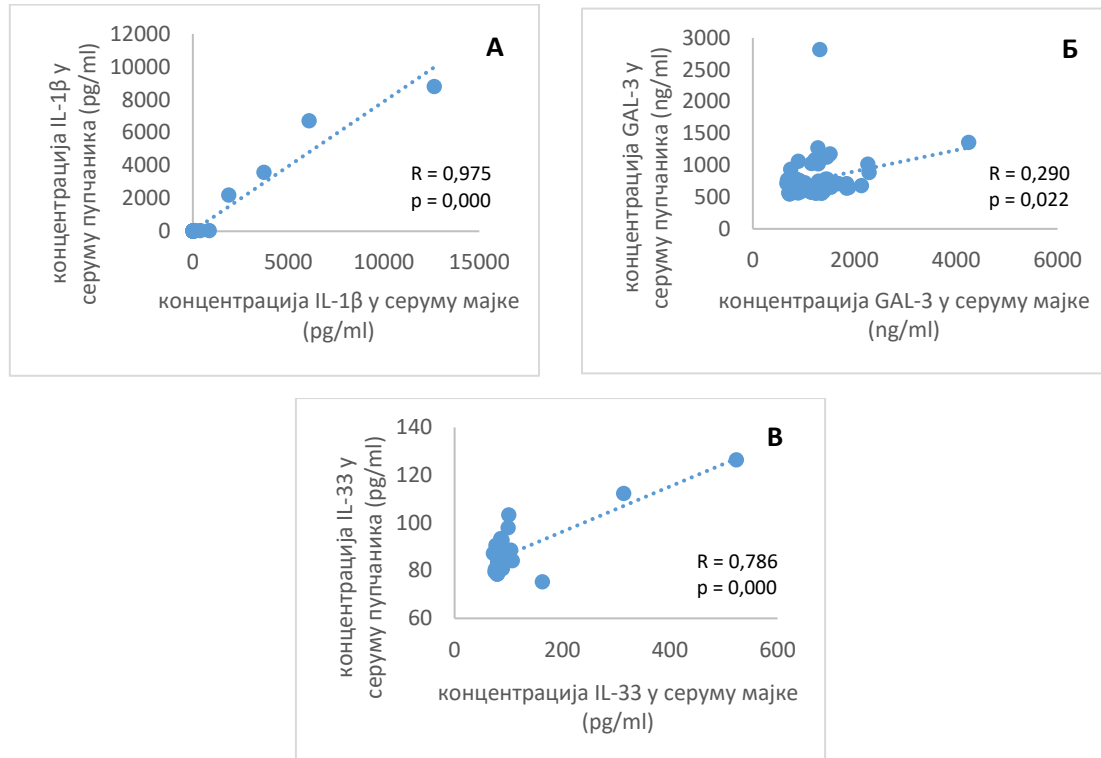
Такође, није запажена корелација између релативне експресије IL-6 у ткиву постелице и концентрације IL-6 у серуму мајке ($R=0.080$, $p=0.624$), док је са концентрацијом IL-6 серуму пупчаника нађена јака, позитивна корелација ($R=0.932$, $p=0.000$).

Није утврђено присуство корелације између релативне експресије IL-33 у ткиву постелице и концентрације IL-33 у серуму мајке ($R=0.036$, $p=0.821$) и серуму пупчаника ($R=0.025$, $p=0.875$).

Наведене вредности нису графички приказане.

4.8.8. Постоји међусобна корелација између концентрације IL-1 β и GAL-3 из серума мајке и са концентрацијама IL-1 β и GAL-3 из серума пупчаника

Анализа међусобне повезаности концентрације испитиваних цитокина (ELISA) из серума мајке и серума пупчаника приказана је на слици 4.21.



Слика 4.21. Анализа међусобне повезаности концентрације IL-1 β (ELISA) у серуму мајке и серуму пупчаника (А), концентрације GAL-3 (ELISA) у серуму мајке и серуму пупчаника (Б) и концентрације IL-33 (ELISA) у серуму мајке и серуму пупчаника (В)

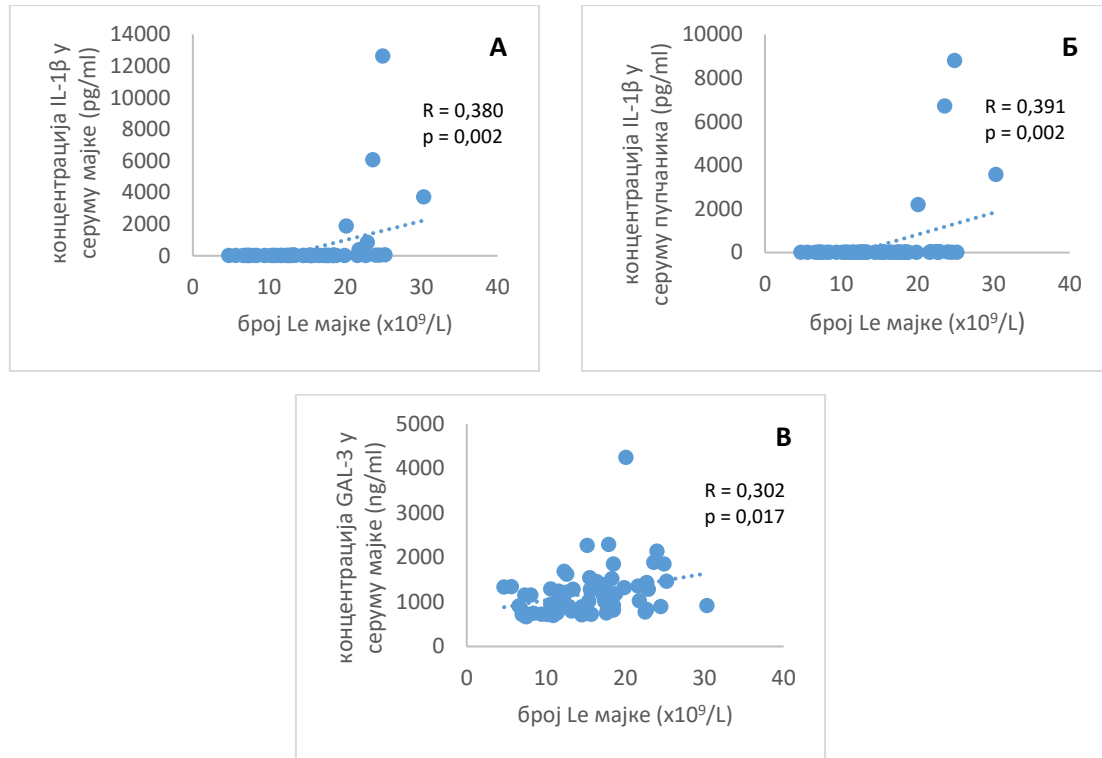
Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између концентрације IL-1 β у серуму мајке и серуму пупчаника ($R=0.975$, $p=0.000$). Такође утврђена је слаба, позитивна корелација између концентрације GAL-3 у серуму мајке и серуму пупчаника ($R=0.290$, $p=0.022$). Концентрације IL-33 у серуму мајке и серуму пупчаника показују јако, позитивну корелацију ($R=0.786$, $p=0.000$).

Није утврђено присуство корелације између концентрације IL-6 у серуму мајке и серуму пупчаника ($R=0.037$, $p=0.778$).

Наведене вредности нису графички приказане.

4.8.9. Постоји корелација између биохемијских параметара инфламације из серума мајке са концентрацијом IL-1 β из серума мајке и серума пупчаника и са концентрацијом GAL-3 из серума мајке

Анализа међусобне повезаности биохемијских параметара инфламације из серума мајке са концентрацијама испитиваних цитокина (ELISA) из серума мајке и серума пупчаника приказана је на слици 4.22., 4.23. и 4.24.

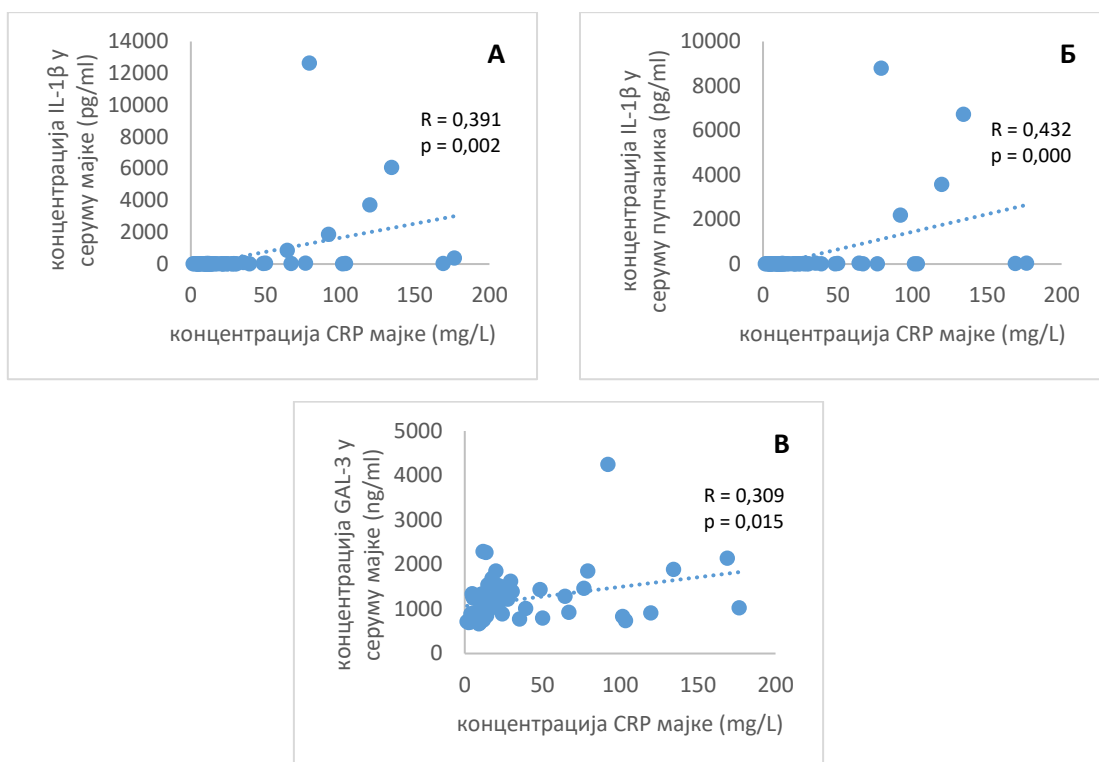


Слика 4.22. Анализа међусобне повезаности броја Le из серума мајке и концентрације IL-1 β (ELISA) из серума мајке (А), концентрације IL-1 β (ELISA) из серума пупчаника (Б) и концентрације GAL-3 (ELISA) из серума мајке (В)

Анализа показује да постоји умерена, позитивна корелација између броја Le из серума мајке и концентрације IL-1 β из серума мајке ($R=0.380$, $p=0.002$). Такође утврђена је умерена, позитивна корелација између броја Le из серума мајке и концентрације IL-1 β из серума пупчаника ($R=0.391$, $p=0.002$). Број Le из серума мајке и концентрација GAL-3 из серума мајке показују умерену, позитивну корелацију ($R=0.302$, $p=0.017$).

Није утврђено присуство корелације између броја Le из серума мајке и концентрације GAL-3 из серума пупчаника ($R=0.193$, $p=0.132$), као ни са концентрацијама IL-6 и IL-33 из серума мајке и серума пупчаника.

Наведене вредности нису графички приказане.

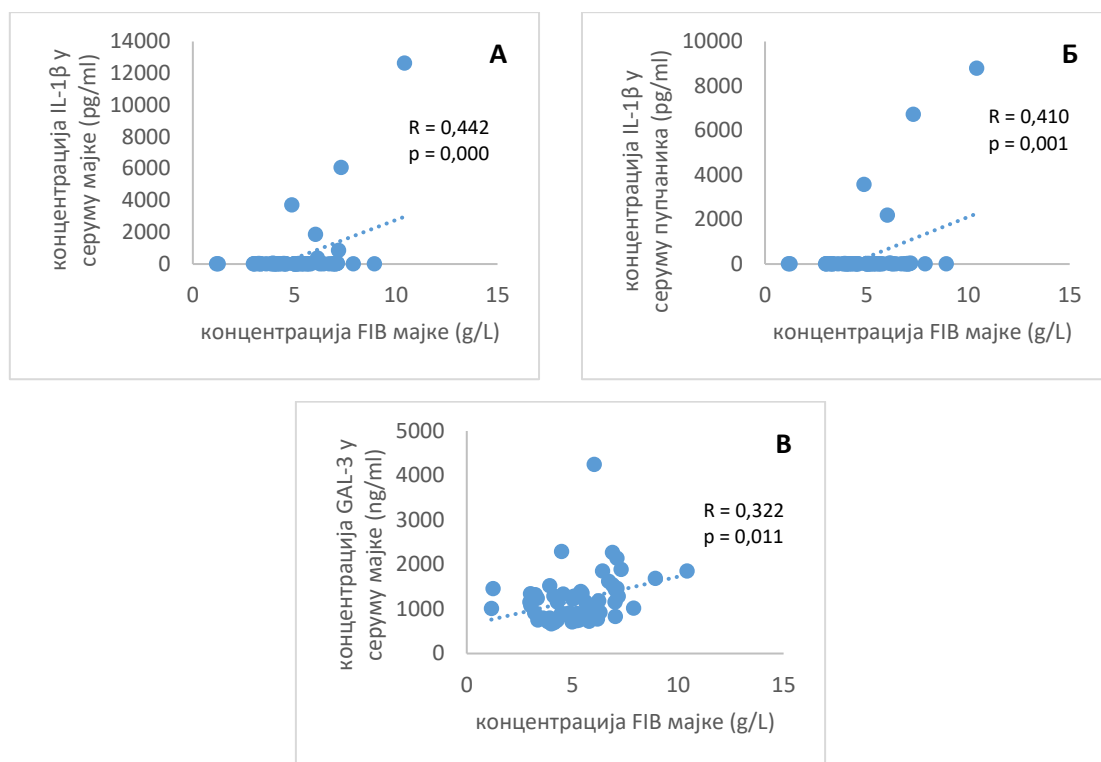


Слика 4.23. Анализа међусобне повезаности концентрације CRP из серума мајке и концентрације IL-1 β (ELISA) из серума мајке (А), концентрације IL-1 β (ELISA) из серума пупчаника (Б) и концентрације GAL-3 (ELISA) из серума мајке (В)

Анализа показује да постоји умерена, позитивна корелација између концентрације CRP из серума мајке и концентрације IL-1 β из серума мајке ($R=0.391$, $p=0.002$). Такође утврђена је умерена, позитивна корелација између концентрације CRP из серума мајке и концентрације IL-1 β из серума пупчаника ($R=0.432$, $p=0.000$). Концентрација CRP из серума мајке и концентрација GAL-3 из серума мајке показују умерену, позитивну корелацију ($R=0.309$, $p=0.015$).

Није утврђено присуство корелације између концентрације CRP из серума мајке и концентрације GAL-3 из серума пупчаника ($R=0.044$, $p=0.732$), као ни са концентрацијама IL-6 и IL-33 из серума мајке и серума пупчаника.

Наведене вредности нису графички приказане.



Слика 4.24. Анализа међусобне повезаности концентрације FIB из серума мајке и концентрације IL-1 β (ELISA) из серума мајке (А), концентрације IL-1 β (ELISA) из серума пупчаника (Б) и концентрације GAL-3 (ELISA) из серума мајке (В)

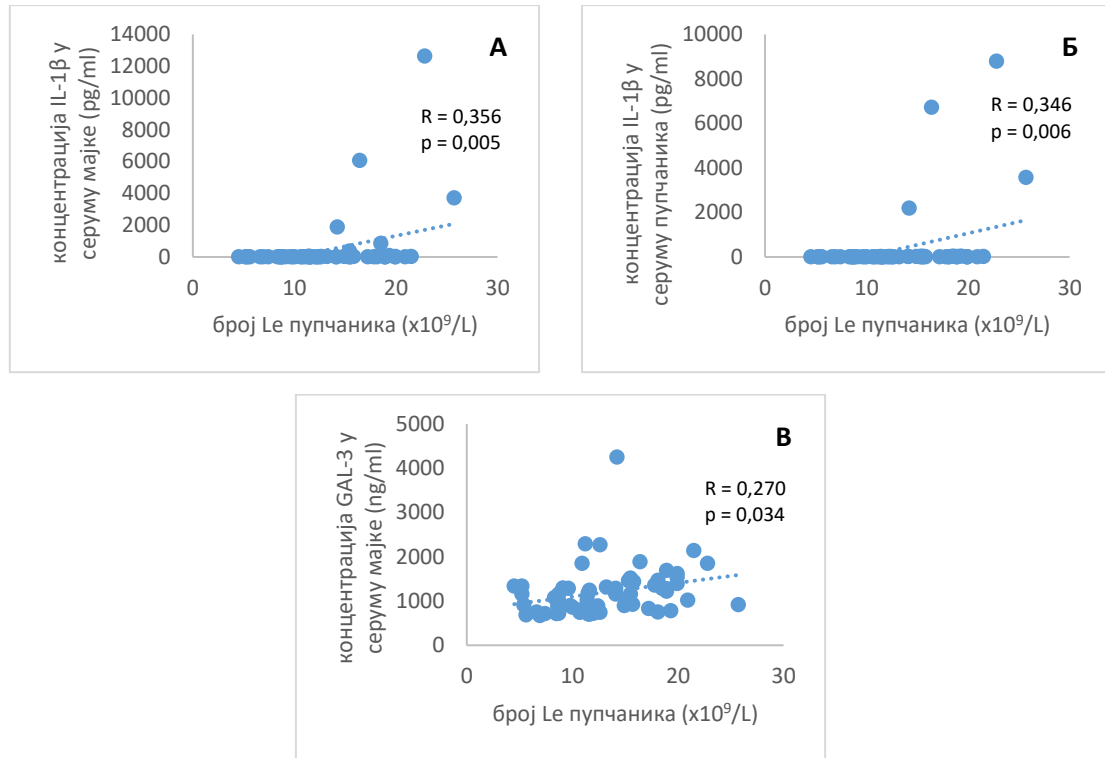
Анализа показује да постоји умерена, позитивна корелација између концентрације FIB из серума мајке и концентрације IL-1 β из серума мајке ($R=0.442$, $p=0.000$). Такође утврђена је умерена, позитивна корелација између концентрације FIB из серума мајке и концентрације IL-1 β из серума пупчаника ($R=0.410$, $p=0.001$). Концентрација FIB из серума мајке и концентрација GAL-3 из серума мајке показују умерену, позитивну корелацију ($R=0.322$, $p=0.011$).

Није утврђено присуство корелације између концентрације FIB из серума мајке и концентрације GAL-3 из серума пупчаника ($R=0.322$, $p=0.011$), као ни са концентрацијама IL-6 и IL-33 из серума мајке и серума пупчаника.

Наведене вредности нису графички приказане.

4.8.10. Постоји корелација између биохемијских параметара инфламације из серума пупчаника са концентрацијом IL-1 β из серума мајке и серума пупчаника и са концентрацијом GAL-3 из серума мајке

Анализа међусобне повезаности биохемијских параметара инфламације из серума пупчаника са концентрацијама испитиваних цитокина (ELISA) из серума мајке и серума пупчаника приказана је на слици 4.25., 4.26. и 4.27.

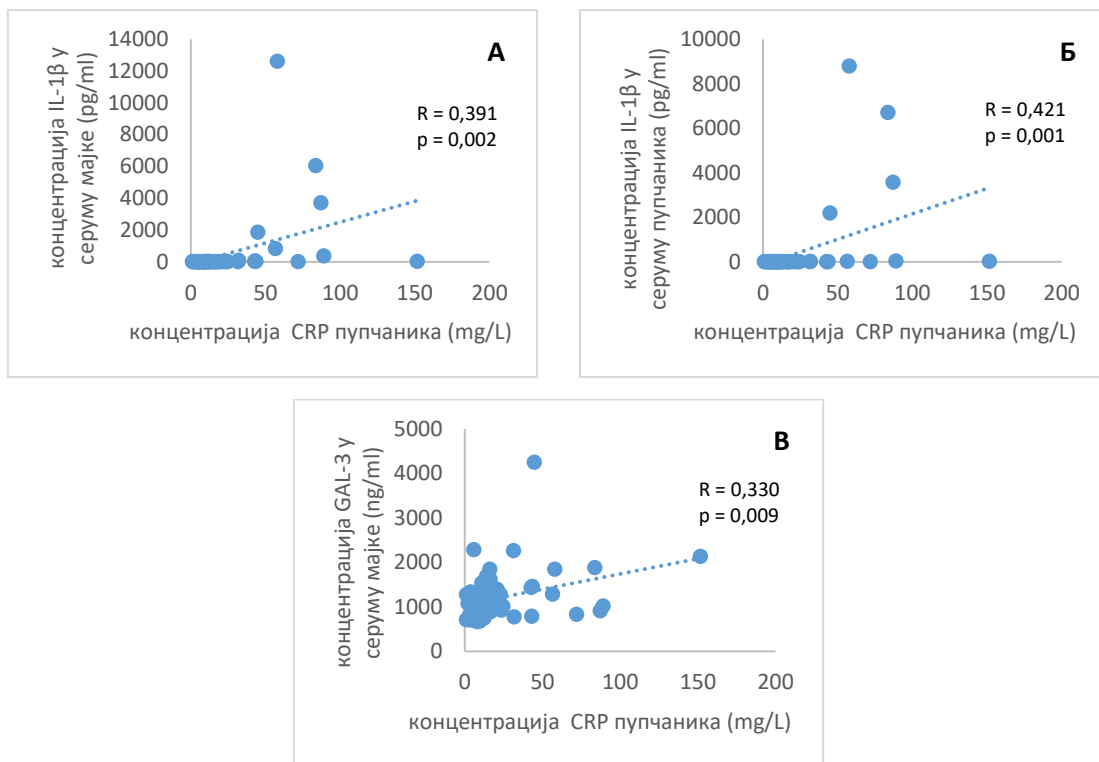


Слика 4.25. Анализа међусобне повезаности броја Le из серума пупчаника и концентрације IL-1 β (ELISA) из серума мајке (А), концентрације IL-1 β (ELISA) из серума пупчаника (Б) и концентрације GAL-3 (ELISA) из серума мајке (В)

Анализа показује да постоји умерена, позитивна корелација између броја Le из серума пупчаника и концентрације IL-1 β из серума мајке ($R=0.356$, $p=0.005$). Такође утврђена је умерена, позитивна корелација између броја Le из серума пупчаника и концентрације IL-1 β из серума пупчаника ($R=0.346$, $p=0.006$). Број Le из серума пупчаника и концентрација GAL-3 из серума мајке показују умерену, позитивну корелацију ($R=0.270$, $p=0.034$).

Није утврђено присуство корелације између броја Le из серума пупчаника и концентрације GAL-3 из серума пупчаника ($R=0.116$, $p=0.367$), као ни са концентрацијама IL-6 и IL-33 из серума мајке и серума пупчаника.

Наведене вредности нису графички приказане.

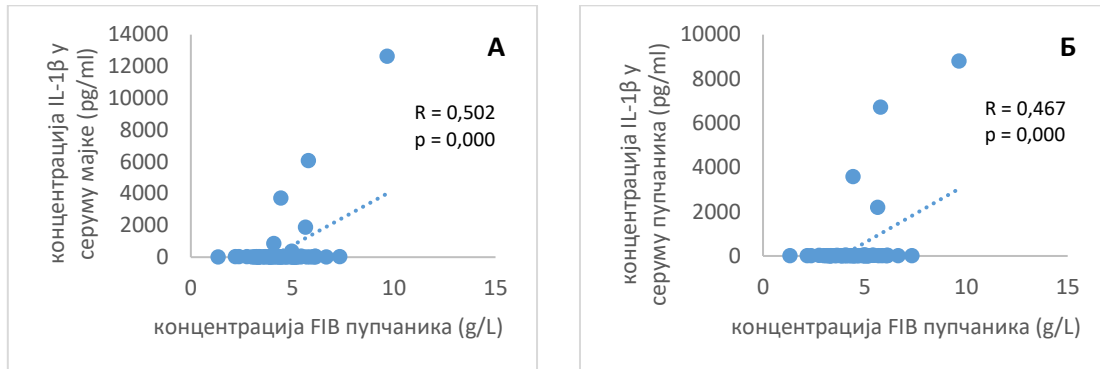


Слика 4.26. Анализа међусобне повезаности концентрације CRP из серума пупчаника и концентрације IL-1 β (ELISA) из серума мајке (А), концентрације IL-1 β (ELISA) из серума пупчаника (Б) и концентрације GAL-3 (ELISA) из серума мајке (В)

Анализа показује да постоји умерена, позитивна корелација између концентрације CRP из серума пупчаника и концентрације IL-1 β из серума мајке ($R=0.391$, $p=0.002$). Такође утврђена је умерена, позитивна корелација између концентрације CRP из серума пупчаника и концентрације IL-1 β из серума пупчаника ($R=0.421$, $p=0.001$). Концентрација CRP из серума мајке и концентрација GAL-3 из серума пупчаника показују умерену, позитивну корелацију ($R=0.330$, $p=0.009$).

Није утврђено присуство корелације између концентрације CRP из серума пупчаника и концентрације GAL-3 из серума пупчаника ($R=0.031$, $p=0.811$), као ни са концентрацијама IL-6 и IL-33 из серума мајке и серума пупчаника.

Наведене вредности нису графички приказане.



Слика 4.27. Анализа међусобне повезаности концентрације FIB из серума пупчаника и концентрације IL-1β (ELISA) из серума мајке (А) и концентрације IL-1β (ELISA) из серума пупчаника (Б)

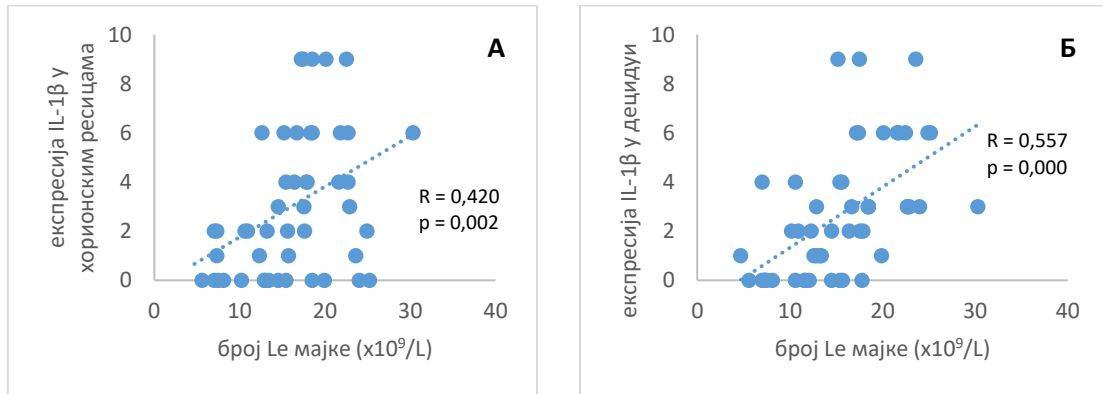
Анализа показује да постоји јака, позитивна корелација између концентрације FIB из серума пупчаника и концентрације IL-1β из серума мајке ($R=0.502$, $p=0.000$). Такође утврђена је умерена, позитивна корелација између концентрације FIB из серума пупчаника и концентрације IL-1β из серума пупчаника ($R=0.467$, $p=0.000$).

Није утврђено присуство корелације између концентрације FIB из серума пупчаника и концентрације GAL-3, као ни са концентрацијама IL-6 и IL-33 из серума мајке и серума пупчаника.

Наведене вредности нису графички приказане.

4.8.11. Постоји корелација између биохемијских параметара инфламације из серума мајке и експресије IL-1 β и GAL-3 у одређеним деловима постељице

Анализа међусобне повезаности биохемијских параметара инфламације из серума мајке и експресије испитиваних цитокина (ИНС) у одређеним деловима постељице приказана је на слици 4.28., 4.29., 4.30 и 4.31.

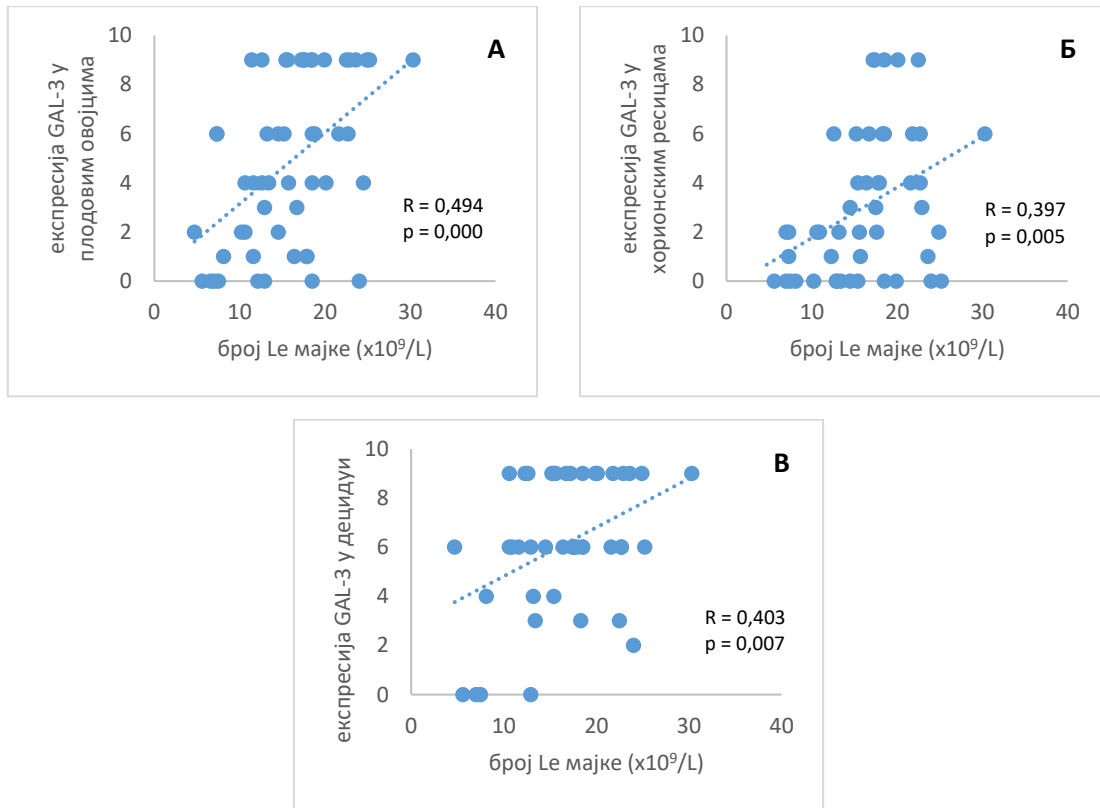


Слика 4.28. Анализа међусобне повезаности броја Le из серума мајке и експресије IL-1 β (ИНС) у хорионским ресицама (А) и децидуи (Б)

Анализа показује да постоји умерена, позитивна корелација између броја Le из серума мајке и експресије IL-1 β у хорионским ресицама ($R=0.420$, $p=0.002$). Такође утврђена је јака, позитивна корелација између броја Le из серума мајке и експресије IL-1 β у децидуи ($R=0.557$, $p=0.000$).

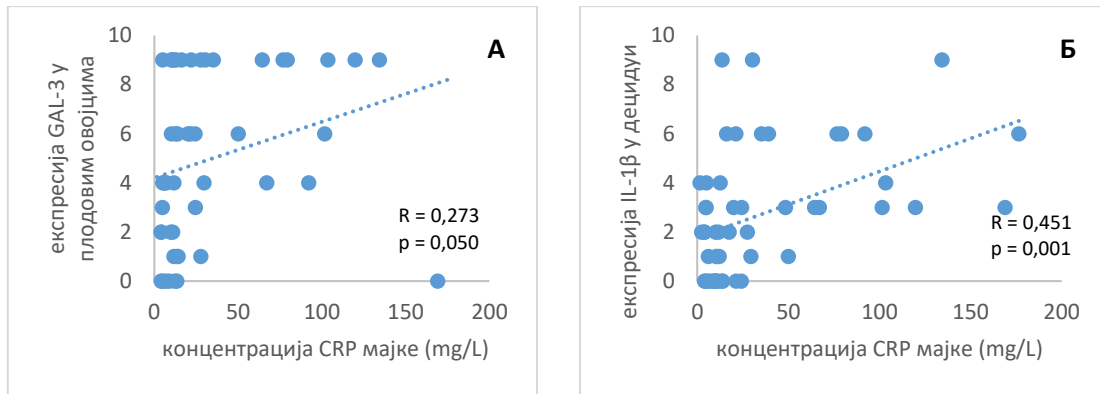
Није утврђено присуство корелације између броја Le из серума мајке и експресије IL-1 β у плодовим овојцима ($R=0.130$, $p=0.344$), као ни са експресијом IL-6 у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи.

Наведене вредности нису графички приказане.



Слика 4.29. Анализа међусобне повезаности броја Le из серума мајке и експресије GAL-3 (ИНС) у плодовим овојцима (А), у хорионским ресицама (Б) и децидуи (В)

Анализа показује да постоји умерена, позитивна корелација између броја Le из серума мајке и експресије GAL-3 у плодовим овојцима ($R=0.494$, $p=0.000$). Такође утврђена је умерена, позитивна корелација између броја Le из серума мајке и експресије GAL-3 у хорионским ресицама ($R=0.397$, $p=0.005$). Број Le из серума мајке и експресије GAL-3 у децидуи показују умерену, позитивну корелацију ($R=0.403$, $p=0.007$).



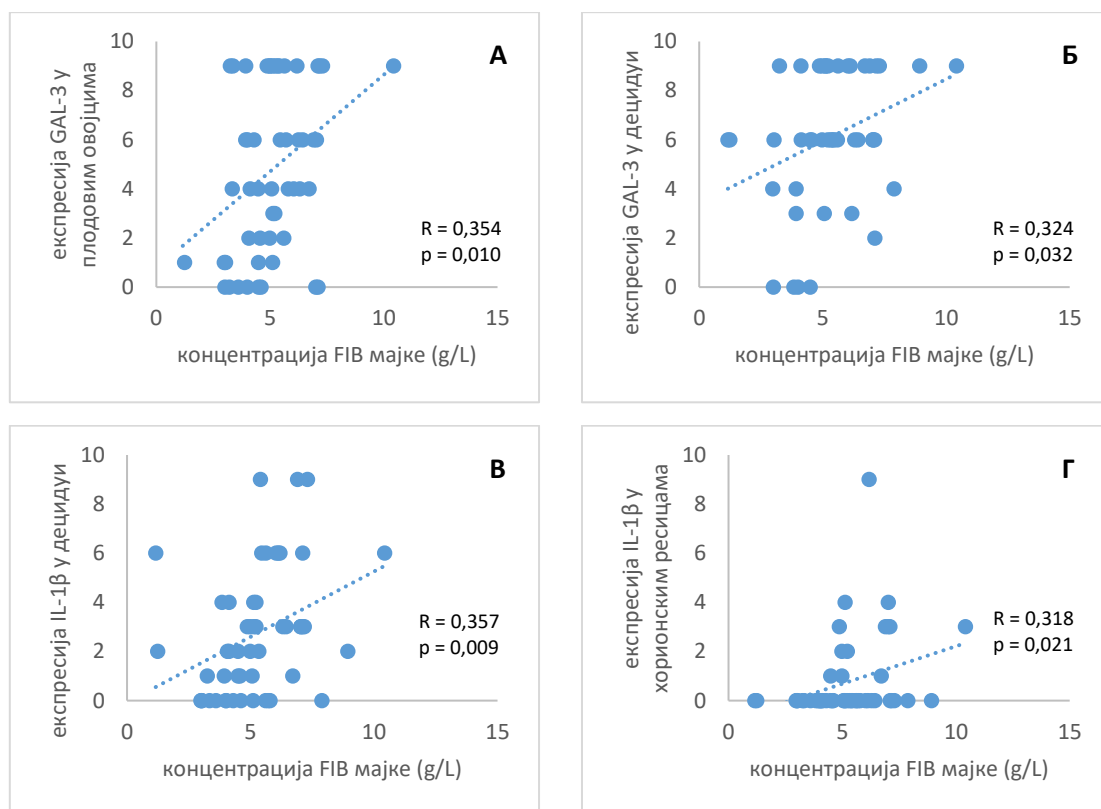
Слика 4.30. Анализа међусобне повезаности концентрације CRP из серума мајке и експресије GAL-3 (ИНС) у плодовим овојцима (А) и експресије IL-1 β у децидуи (Б)

Анализа показује да постоји слаба, позитивна корелација између концентрације CRP из серума мајке и експресије GAL-3 у плодовим овојцима ($R=0.273$, $p=0.050$). Такође утврђена је умерена, позитивна корелација између концентрације CRP из серума мајке и експресије IL-1 β у децидуи ($R=0.451$, $p=0.001$).

Није утврђено присуство корелације између концентрације CRP из серума мајке и експресије GAL-3 у хорионским ресицама ($R=0.222$, $p=0.129$), као ни са експресијом GAL-3 у децидуи ($R=0.241$, $p=0.116$). Такође, није утврђено присуство корелације између концентрације CRP из серума мајке и експресије IL-1 β у плодовим овојцима ($R=0.065$, $p=0.636$), као ни са експресијом IL-1 β у хорионским ресицама ($R=0.175$, $p=0.215$).

Није детектована повезаност концентрације CRP из серума мајке са експресијом IL-6 у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи.

Наведене вредности нису графички приказане.



Слика 4.31. Анализа међусобне повезаности концентрације FIB из серума мајке и експресије GAL-3 (ИНС) у плодовим овојцима (А), експресије GAL-3 (ИНС) у децидуи (Б), експресије IL-1 β (ИНС) у децидуи (В) и експресије IL-1 β (ИНС) у хорионским ресицама (Г)

Анализа показује да постоји умерена, позитивна корелација између концентрације FIB из серума мајке и експресије GAL-3 у плодовим овојцима ($R=0.354$, $p=0.010$) и умерена, позитивна корелација између концентрације FIB из серума мајке и експресије GAL-3 у децидуи ($R=0.324$, $p=0.032$).

Такође утврђена је умерена, позитивна корелација између концентрације FIB из серума мајке и експресије IL-1 β у децидуи ($R=0.357$, $p=0.009$), као и умерена, позитивна корелација између концентрације FIB из серума мајке и експресије IL-1 β у хорионским ресицама ($R=0.318$, $p=0.021$).

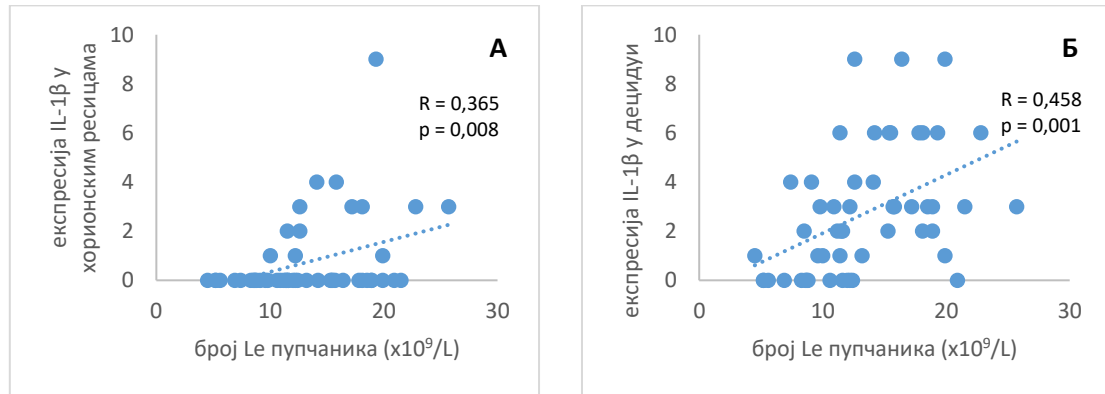
Није утврђено присуство корелације између концентрације FIB из серума мајке и експресије GAL-3 у хорионским ресицама ($R=0.000$, $p=0.997$), као ни са експресијом IL-1 β у плодовим овојцима ($R=0.041$, $p=0.764$).

Није детектована повезаност концентрације FIB из серума мајке са експресијом IL-6 у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи.

Наведене вредности нису графички приказане.

4.8.12. Постоји корелација између биохемијских параметара инфламације из серума пупчаника и експресије IL-1 β и GAL-3 у одређеним деловима постељице

Анализа међусобне повезаности биохемијских параметара инфламације из серума пупчаника и експресије испитиваних цитокина (ИНС) у одређеним деловима постељице приказана је на слици 4.32., 4.33., 4.34 и 4.35.

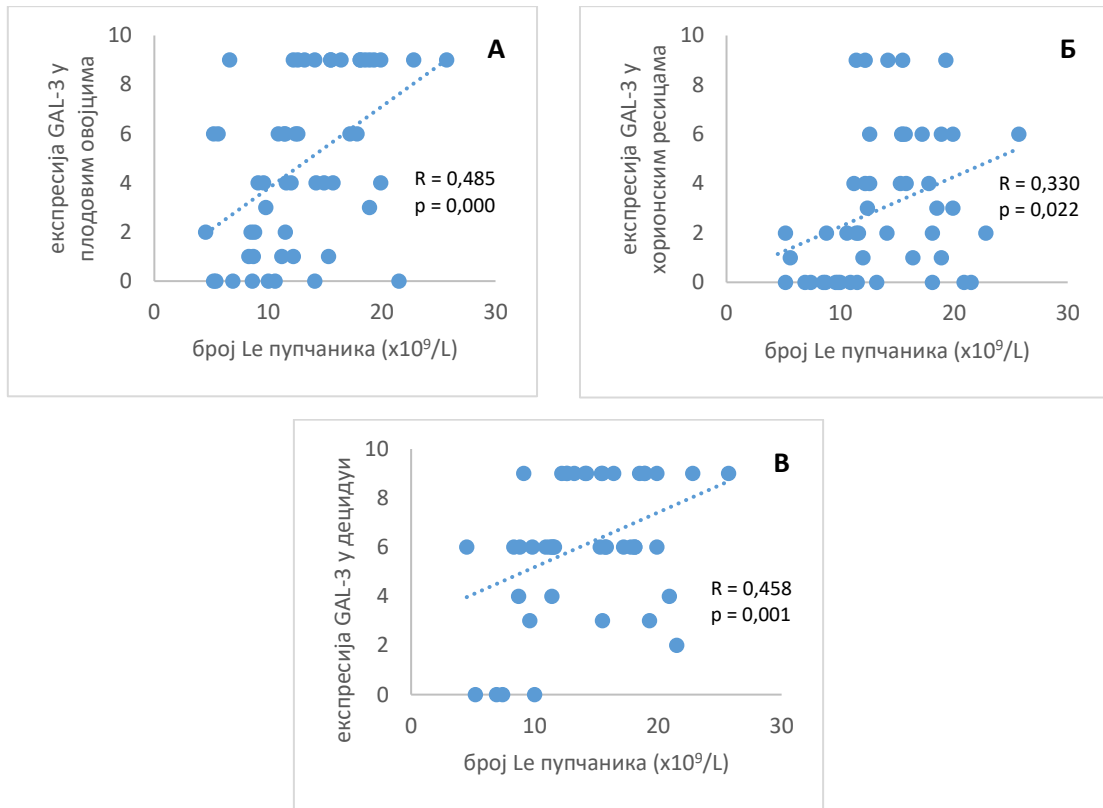


Слика 4.32. Анализа међусобне повезаности броја Le из серума пупчаника и експресије IL-1 β (ИНС) у хорионским ресицама (А) и децидуи (Б)

Анализа показује да постоји умерена, позитивна корелација између броја Le из серума пупчаника и експресије IL-1 β у хорионским ресицама ($R=0.365$, $p=0.008$). Такође утврђена је умерена, позитивна корелација између броја Le из серума мајке и експресије IL-1 β у децидуи ($R=0.458$, $p=0.000$).

Није утврђено присуство корелације између броја Le из серума пупчаника и експресије IL-1 β у плодовим овојцима ($R=0.226$, $p=0.097$), као ни са експресијом IL-6 у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи.

Наведене вредности нису графички приказане.



Слика 4.33. Анализа међусобне повезаности броја Le из серума пупчаника и експресије GAL-3 (ИНС) у плодовим овојцима (А), хорионским ресицама (Б) и децидуи (В)

Анализа показује да постоји умерена, позитивна корелација између броја Le из серума пупчаника и експресије GAL-3 у плодовим овојцима ($R=0.485$, $p=0.000$). Такође утврђена је умерена, позитивна корелација између броја Le из серума пупчаника и експресије GAL-3 у хорионским ресицама ($R=0.330$, $p=0.022$). Број Le из серума пупчаника и експресије GAL-3 у децидуи показују умерену, позитивну корелацију ($R=0.458$, $p=0.001$).



Слика 4.35. Анализа међусобне повезаности концентрације FIB из серума пупчаника и експресије IL-1 β (ИНС) у децидуи.

Анализа показује да постоји умерена, позитивна корелација између концентрације FIB из серума пупчаника и експресије IL-1 β у децидуи ($R=0.432$, $p=0.000$).

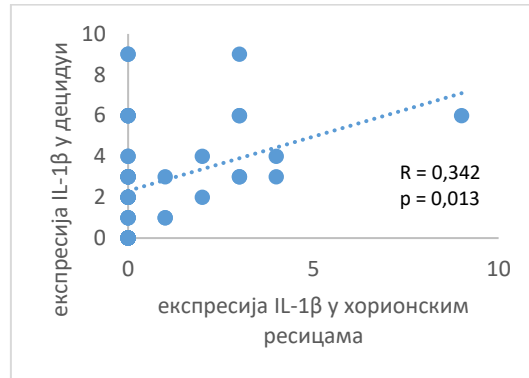
Није утврђено присуство корелације између концентрације FIB из серума пупчаника и експресије IL-1 β у плодовим овојцима ($R=0.064$, $p=0.645$), као ни са експресијом IL-1 β у хорионским ресицама ($R=0.208$, $p=0.139$).

Такође, није утврђено присуство корелације између концентрације FIB из серума пупчаника и експресије како GAL-3, тако и IL-6 у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи.

Наведене вредности нису графички приказане.

4.8.13. Постоји међусобна корелација између експресије IL-1 β и GAL-3 у одређеним деловима постељице

Анализа међусобне повезаности експресије испитиваних цитокина (ИНС) у одређеним деловима постељице приказана је на слици 4.36., 4.37. и 4.38.



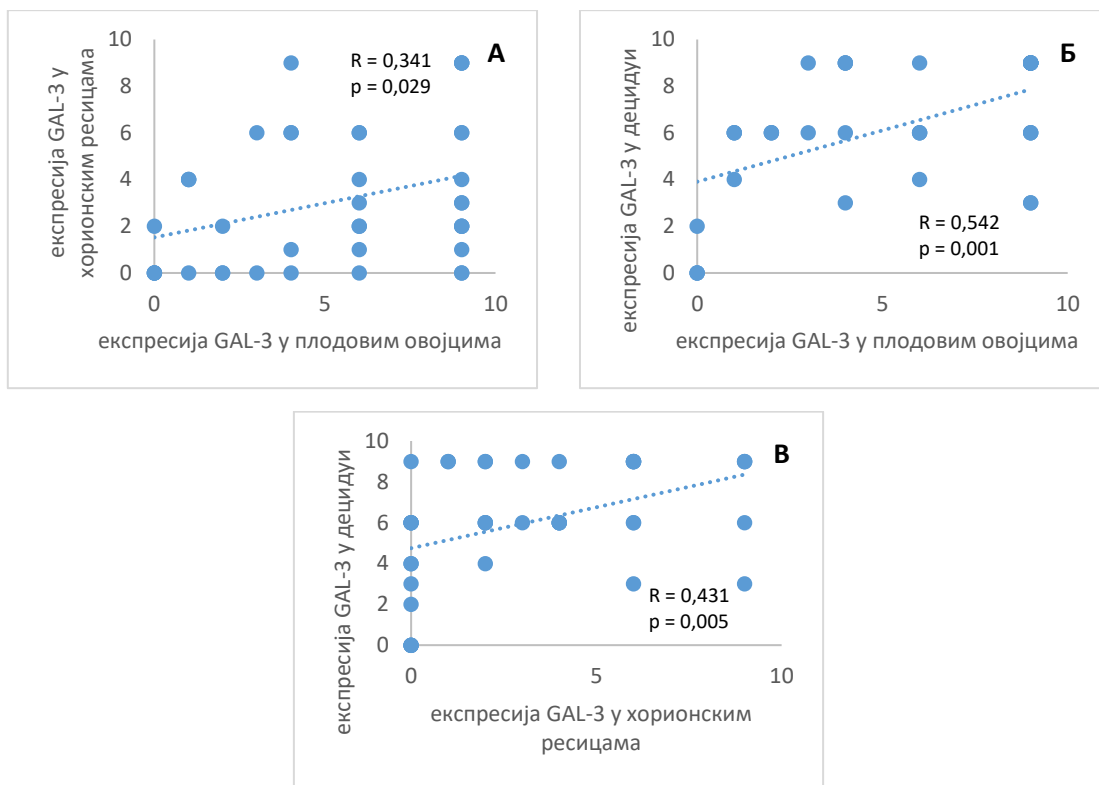
Слика 4.36. Анализа међусобне повезаности експресије IL-1 β (ИНС) у хорионским ресицама и експресије IL-1 β (ИНС) у децидуи

Анализа показује да постоји умерена, позитивна корелација између експресије IL-1 β у хорионским ресицама и експресије IL-1 β у децидуи ($R=0.342$, $p=0.013$).

Није утврђено присуство корелације између експресије IL-1 β у плодовим овојцима и експресије IL-1 β у хорионским ресицама ($R=0.201$, $p=0.174$), као ни код експресије IL-1 β у плодовим овојцима и експресије IL-1 β у децидуи ($R=0.290$, $p=0.048$).

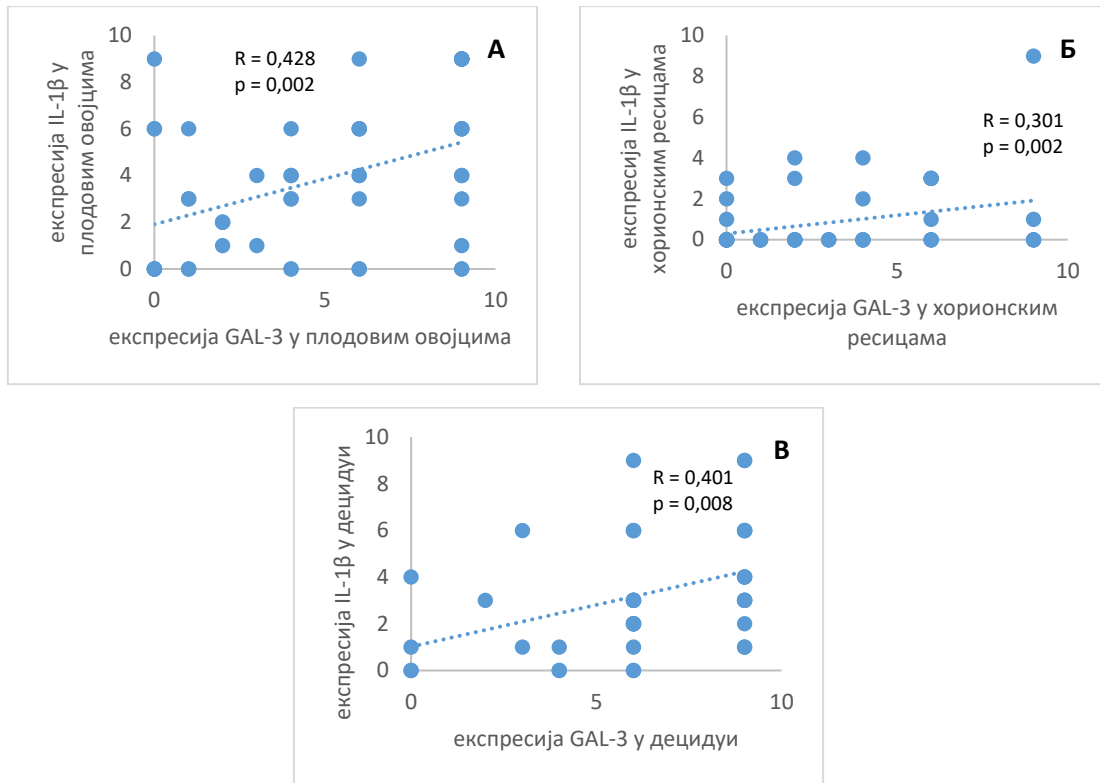
Такође, није утврђено присуство међусобне повезаности између експресије IL-6 у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи, осим између експресије IL-6 у хорионским ресицама и децидуи ($R=0.430$, $p=0.001$).

Наведене вредности нису графички приказане.



Слика 4.37. Анализа међусобне повезаности експресије GAL-3 (ИНС) у плодовим овојцима и експресије GAL-3 (ИНС) у хорионским ресицама (А), експресије GAL-3 (ИНС) у плодовим овојцима и експресије GAL-3 (ИНС) у децидуи (Б) и експресије GAL-3 (ИНС) у хорионским ресицама и експресије GAL-3 (ИНС) у децидуи (В)

Анализа показује да постоји умерена, позитивна корелација између експресије GAL-3 у плодовим овојцима и експресије GAL-3 у хорионским ресицама ($R=0.341$, $p=0.029$). Такође, утврђено је присуство јаке, позитивне корелација између експресије GAL-3 у плодовим овојцима и експресије GAL-3 у децидуи ($R=0.542$, $p=0.001$). Експресија GAL-3 у хорионским ресицама и експресија GAL-3 у децидуи показује умерену, позитивну корелацију ($R=0.431$, $p=0.005$).



Слика 4.38. Анализа међусобне повезаности експресије GAL-3 (ИНС) и експресије IL-1 β (ИНС) у плодовим овојцима (А), експресије GAL-3 (ИНС) и експресије IL-1 β (ИНС) у хорионским ресицама (Б) и експресије GAL-3 (ИНС) и експресије IL-1 β (ИНС) у децидуи (Б)

Анализа показује да постоји умерена, позитивна корелација између експресије GAL-3 и експресије IL-1 β у плодовим овојцима ($R=0.428$, $p=0.002$). Такође, утврђено је присуство умерене, позитивне корелација између експресије GAL-3 и експресије IL-1 β у хорионским ресицама ($R=0.301$, $p=0.002$). Експресија GAL-3 и експресија IL-1 β у децидуи показује умерену, позитивну корелацију ($R=0.401$, $p=0.008$).

Експресије преосталих испитиваних цитокина у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи не показују повезаност осим експресије IL-1 β и експресије IL-6 у хорионским ресицама ($R=0.301$, $p=0.036$).

Наведене вредности нису графички приказане.

5. ДИСКУСИЈА

Претермински порођај представља озбиљан медицински, друштвени, социјални, економски и емоционални проблем. Упркос напорима савремене медицинске науке, нису у потпуности дефинисани разлози настанка претерминског порођаја, нити у јединствену целину повезани до сада познати (и претпостављени) патофизиолошки механизми. С правом се може рећи да је претермински порођај и даље мистичан медицински појам, који захтева озбиљан научни и здравствени приступ.

Претермински порођај суштински представља синдромско стање, у коме као ентитет не учествује само мајка, нити само плод, већ и читав низ различитих доприносиоца фактора, чинилаца који додатно компликују овај перинатолошки проблем. Међутим, откривање нових и прецизније дефинисање већ познатих патофизиолошких аспеката, помажу перинатолозима да таргетирају гравидарни проблем, открију га на време и спрече његове компликације.

Последњих година се највећи акценат ставља на инфламацију као важну карику у патофизиологији претерминског порођаја. Она као таква или удружена са инфекцијом, у значајној мери доприноси крајњем простагландинском ослобађању које доводи до започињања порођаја. Инфламација (посебно асептична) налази се у основи започињања и терминског и претерминског порођаја. Позната је чињеница да се започети порођај не може спречити, али се може одложити. Међутим, инфламација удружена са инфекцијом, компликује и термински, а посебно претермински порођај.

Термин хориоамнионитис се дословно односи на инфламаторну реакцију која се одвија у плодовим овојцима (амниону и хориону) (8). Хориоамнионске мембране чине најудаљенији део концептуса (9). Оне с једне стране представљају границу, а са друге стране везу између мајке и плода. Поремећај ове одбрамбене баријере ка капитулирању испред инфективних и/или инфламаторних чинилаца, доводи до нежељеног исхода трудноће у смислу настанка порођаја пре очекиваног термина и његових следствених компликација.

Хориоамнионитис у етиолошком смислу представља хетерогени ентитет. Више америчких здравствених удружења дало је предлог да се термин хориоамнионитиса замени појмом “*triple P*” – инфекција, инфламација и обоје (8,12). Обухвата сублимацију два најважнија патофизиолошка процеса. Инфекцију – која се налази у значајном проценту хориоамнионитиса (доказани микробиолошки агенси, њихове партикуле или ДНК) и последичну инфламацију (асептичну или покренуту микробиолошком инвазијом). Претрагом Кохранове базе података, закључује се да је квалитет доказа који говори у прилог широј примени концепта “*triple P*” лош (8,108).

Наша студија се управо базира на испитивању инфламаторних аспеката хориоамнионитиса, те дефинисању прецизније и јасније повезаности потенцијалних инфламаторних маркера чија је веза до сада била потпуно или делимично непозната. У нашој студији учествовало је 62 испитанице, које су након претходно дефинисаних и потврђених критеријума (клиничких, биохемијских и патохистолошких), подељене у две униформисане групе:

- Експерименталну групу са претерминским порођајем и хистолошки потврђеним хориоамнионитисом (n=40),
- Контролну групу са терминским порођајем и хистолошки одбаченим хориоамнионитисом (n=22).

Униформна подела студијских група ће, кроз даље истраживање олакшати дискутовање разлика у експресији испитиваних цитокина и параметара инфламације, а без потенцијалног утицаја других инфламаторних и инфективних стања. Резултати ће бити дискутовани у контексту времена наступања порођаја, као и присуства или одсуства инфламаторне реакције плодних овојака и постеличног ткива.

Снага наше студије базирала се на ригорозним искључујућим критеријумима. У савременој перинатологији расте учесталост болести које прате трудноћу, а повећава се и проценат хируршких прекида трудноће. Веома је тешко извести „уједначену” студију претерминског порођаја, који се води природним путем и који настаје тако брзо да се не изврши артефицијална фетална пулмонална матурација и не примени антибиотска терапија најмање два недеље пре порођаја. Штавише, током трудноће таква пацијенткиња не би требало да има акутне или хроничне, инфламаторне, системске или аутоимуне болести, што треба да буде потврђено лекарским прегледима и документацијом. Наведени фактори објашњавају разлог за број испитаника у нашој студији.

Управо је наша студија омогућила регрутовање таквих пацијената и одбацила утицај до сада познатих инфламаторних и инфективних стања, као и медикамената који потенцијално могу утицати на вредности испитиваних параметара инфламације. Позната је чињеница да оперативно завршавање трудноће доводи до пораста појединих инфламаторних маркера, па су испитанице у нашој студији порођене вагиналним путем. Такође, примена кортикостероида утиче на резултате биохемијских маркера инфламације, као и на пораст концентрације појединих цитокина (278,279). Управо је то био један од кључних искључујућих критеријума. Супротно, примена антибиотика (који се често ординирају емпиријски и неоправдано) ће довести до смањења маркера инфламације што је могло у нашу студију увести лажно негативне резултате. Зато је примена антибиотика (најмање две недеље пре порођаја, због продуженог дејства ових медикамената) била други, важан искључујући критеријум.

Свака испитаница у нашој студији имала је уредан стоматолошки картон, како би се спречио потенцијални дентални инфламаторни утицај. Познато је да многе бактерије усне дупље могу бити разлози хориоамнионитиса (86). Утицај системских, малигних и инфламаторних болести који компликују ток трудноће, одражавају се и на концентрацију испитиваних инфламаторних маркера у нашој студији, па су ова стања допунила листу искључујућих критеријума.

Код испитаница како контролне, тако и експерименталне групе нису коришћени простагландински препарати у циљу индукције порођаја или његове стимулације. Све испитанице које су третиране простагландинским препаратима, нису учествовале у студији. Утврђено је да веза између окситоцина и инфламаторних медијатора није обострана, већ једнострана и то таква да окситоцинску продукцију стимулишу инфламаторни медијатори, међутим не и обратно (384). Из тог разлога примена окситоцина није била ограничавајући чинилац приликом регрутовања испитаница за учешће у истраживању.

Први део наше студије односи се на испитивање посредног или непосредног утицаја појединих доприносићих фактора на настанак претерминског порођаја. Године живота нису биле доприносићи чинилац у настанку претерминског порођаја у нашем истраживању, иако је запажање, а и позната медицинска чињеница да су труднице старије животне доби у већем ризику. Томе доприноси податак из наше студије да је најстарија испитаница, са својих 50 година, припадала експерименталној групи и то

изузетно раном претерминском порођају (25.0 – 27.6 нг). Међутим, није постојала статистички значајна разлика ($p > 0.05$) између контролне и експерименталне групе када је реч о годинама живота.

Анализом графикана 4.3. изводимо мишљење које оправдава претходну тврдњу. До касног претерминског порођаја (до 34.0 нг), просечан број година испитаница се смањује, да би од 34.0 нг и током обе групе терминског порођаја, поново дошло до пораста просечног броја година живота трудница. Обзиром да од 34. недеље трудноће није неопходна артефицијална фетална пулмонална матурација, сматра се да су, по неонатолошким карактеристикама, новорођенчад из групе касних претерминских порођаја идентичнија новорођенчадима из терминских порођаја. Иако нема статистичке значајности у нашој студији, неоспорно је године живота имају (због низа природних, физиолошких збивања у организму жене) бар непосредан утицај на исход порођаја.

Занимљив је податак да је претермински порођај настао код 50% испитаница у експерименталној групи (графикон 4.4.), док се у 27.5% јавио након већ најмање једног претерминског порођаја. Не може се оспорити чињеница да су вишеротке, посебно са претходним (најмање једним) претерминским порођајем у већем ризику за поновно наступање порођаја пре очекиваног термина. Ипак, анализом графикана 4.5. изводимо закључак да већина испитаница, из обе испитиване групе у нашој студији, није у анамнези имала претходни претермински порођај. Наша студија ипак није показала повезаност између претходног претерминског порођаја и групе са и без хориоамнионитиса, што се и делимично поклапа са подацима из литературе.

Анализирали смо и иницијални чинилац (симптом или знак) започињања порођаја. Овај параметар се децидно не може повезати са следственом инфекцијом. Разлог томе је што порођајне контракције могу бити у директној вези са инфламацијом, односно да их септична инфламација може покренути простагландинско-окситоцинским утицајем, али и следственом хипоксијом мишића (113,117,120). Такође, PPRoM не мора увек настати на терену последичне инфекције, иако је то један од значајних клиничких маркера интраамнионске инфекције (9,22). Ипак, није потпуно јасно да ли је хориоамнионитис узрок или последица PPRoM-а и претерминског порођаја (9,76)?

Анализа графикана 4.6. показује да је PPRoM, као иницијални знак доминирао у експерименталној групи са учесталошћу од 62.5%, а обзиром да је то група са хистолошки доказаним хориоамнионитисом, апсолутно је оправдано мишљење да је настала на терену инфекције. У контролној групи доминирају порођајни болови као иницијални симптом започетог порођаја, при чему се утицај инфекције у овом случају не може децидно одбацити. Ипак, наше истраживање показује да постоји повезаност између иницијалног симптома/знака започетог порођаја и групе са и без хориоамнионитиса, што се и делимично поклапа са подацима из литературе.

Животне навике нису у нашој студији нису имале утицаја на настанак претерминског порођаја, иако се спорадично, у литератури наводи да конзумирање цигарета јесте непосредни фактор ризика. Наша студија није нашла повезаност између конзумације цигарета и групе са и без хориоамнионитиса. Тумачењем графикана 4.7. добијамо информацију да је већи број испитаница (55%) у експерименталној групи са хориоамнионитисом конзумирао цигарете. Због различитих података наше студије и литературе, можемо закључити да цигарете нису директни индикатор хориоамнионитиса, али могу допринети претерминском порођају другим патофизиолошким механизмима (нпр. феталном хипоксијом) (113,119).

Иако етиологија хориоамнионитиса остаје недовољно истражена, не може се оспорити утицај микроорганизама, а пре свега бактерија. Сматра се да је развој инфективног (микробиолошког) хориоамнионитиса само један од стадијума у развоју интраамнионске инфекције (9). Хистолошки потврђен хориоамнионитис, налази се у 72% случајева постелица претерминских порођаја код којих је амниоцентезом нађена микробиолошка инвазија плодове воде (9).

У нормалним условима амнионска шупљина је стерилна за микроорганизме (4). Најчешћи пут ширења инфекције и јесте усходни из доњег гениталног тракта. Међутим, слузни чеп представља анатомску и функционалну препреку ширењу инфекције (87-93). Заштитну улогу у спречавању ширења инфекције имају и плодови овојци, мада они не представљају апсолутну баријеру. Није неопходно да они руптурирају да би бактерије биле присутне у амнионској шупљини. У прилог томе говори чињеница утврђивања иницијалне инфекције децидуе у супрацервикалном региону. Накнадно долази до умножавања бактерија и њиховог проласка кроз хориоамнионске мембране (94,95).

Наша студија изабрала је потенцијали асцедентни (из вагине) и десецентни начин (по руптури плодова овојака) ширења инфекције као вероватни начин верификације септичне инфламације, а који је доказан или одбачен анализом цервиковагиналног бриса. Наше истраживање је показало да постоји повезаност између позитивних резултата микробиолошке анализе цервиковагиналног бриса и варијабле група (експериментална-претермински порођај са хориоамнионитисом и контролна-термински порођај без хориоамнионитиса).

Наши резултати су опречни у односу на резултате из литературе. Код 40-60% случајева нађен је инфламаторни процес код верификованог хистолошког хориоамнионитиса (72-75). У нашој студији тај проценат је био 81.2% испитаница са позитивним цервиковагиналним брисом у експерименталној групи (графикон 4.8.). 18% случајева претерминских порођаја између 32.-36. недеље трудноће има доказану инфекцију, док је највећи проценат (39%) са позитивним бактеријским културама из порођаја пре 32. недеље трудноће (2). У нашој студији највећи проценат доказане цервиковагиналне инфекције припадао је изузетно раном претерминском порођају.

Тумачењем графикана 4.9., закључујемо да је постојање цервиковагиналне инфекција обрнуто пропорционално гестацијској старости до 34. недеље трудноће, као и да постоји статистички значајна разлика у групи са позитивним цервиковагиналним брисевима између изузетно раног и веома раног претерминског порођаја са преосталим групама претерминског и терминским порођаја. Идентична статистички значајна разлика постоји и у групи са негативним цервиковагиналним брисевима. Утврђено је постојање повезаности између позитивних резултата микробиолошке анализе цервиковагиналног бриса и гестацијске старости.

Према подацима из литературе изолована флора у цервиковагиналном брису је у 65% полимикробна (14). Изоловање вируса из плодове воде је ређе од изоловања бактерија (15,104). Гљивичне инфекције компликују мање од 0.8% случајева трудноћа (105). Наша студија даје опречне податке када је реч о изолованим узрочницима цервиковагиналне инфекције. *Ureaplasma urealyticum* је такође најчешћи узрочник са 44.82%, међутим *Escherichia coli* је друга по учесталости са 31.03%. *Gardnerella vaginalis* као доминантни узрочник бактеријске вагинозе заступљена је са 24.14% што је идентично подацима из литературе. Ипак, гљивична инфекција *Candida sp.* чини 31.03%, што је далеко чешће од података из литературе, и у нашој студији је обично присутна у полимикробној флори (табела 4.4.).

Бактерије су чешће откривене у амнионској течности него у хориоамнионским мембранама (100% наспрам 33%) (96). Такође, бактерије се могу наћи у хориоамнионској опни (вероватно као иницијални степеник инвазије), иако се као такве не могу изоловати из плодове воде (97). Сматра се да се тада неће десити покретање претерминског порођаја, већ тек када бактерије инвадирају амнионску шупљину (98). Тада се активира снажна инфламаторна реакција са порастом концентрације проинфламаторних цитокина и хемокина (4).

Наше истраживање показује да не постоји повезаност између позитивних резултата микробиолошке анализе цервикагиналног бриса и иницијалног симптома/знака покретања порођаја. Међутим, не значи свако присуство микроорганизама у плодовој води и присуство истих у постељици. Такође, не значи ни развој хориоамнионитиса. За то постоји низ оправданих објашњења: не може се дефинисати критична концентрација микроорганизама као индуктора хориоамнионитиса и следственог претерминског порођаја (77-81).

Ипак, статистичка значајност спроведена у нашој студији је упитна. Иако доминирају позитивни цервикагинални брисеви у групи са руптуром плодових овојака, не показује се значајна повезаност руптуре плодових овојака, позитивних цервикагиналних брисева и претерминског порођаја, без прејудуцирања узрока и последице ових патофизиолошких процеса (графикон 4.10.).

Позната је чињеница да су вредности броја Le повишени код хориоамнионитиса, те да леукоцитоза представља значајан предиспонирајући параметар клиничког хориоамнионитиса (12,112). Она се јавља у 33% случајева, са граничном вредношћу >12000 леукоцита/ mm^3 (14,113). Наше испитивање потврђује наведене податке.

Апсолутни број Le је значајно ($p<0,01$) већи у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са хориоамнионитисом када се упореди са апсолутним бројем ових ћелија у серуму мајке и серуму пупчаника у контролној групи (табела 4.5.). CRP је неспецифичан инфламаторни маркер, али има велику сензитивност у детекцији инфламаторног процеса, посебно код доказане инфекције. У нашој студији подаци везани за CRP говоре у прилог статистички значајним ($p<0,01$) већим вредностима у експерименталној групи (са хориоамнионитисом) у односу на контролну групу (без хориоамнионитиса). FIB је још неспецифичнији маркер и за њега нема података у литератури, у смислу везе са хориоамнионитисом. Међутим, наша студија је нашла статистичку значајност ($p<0,01$) у вредностима FIB између експерименталне групе (са хориоамнионитисом) у и контролне групе (без хориоамнионитиса).

Мајчино порекло леукоцита у хориоамнионитису (преко 90%) (35), објашњава веће вредности ћелија у крви мајке у односу на крв пупчаника. Међутим, повећање ових ћелија у крви пупчаника може указивати на евентуални (вероватно започети) FIRS (33). Потенцијална инфекција фетуса се може претпоставити пункцијом пупчане вене, јер ту почињу иницијалне инфламаторне промене (2,26). То објашњава зашто у лабораторијским анализама крви из пупчаника најпре пунктирају вене (са сврхом ране детекције инфламације).

Апсолутни број Le је такође значајно ($p<0,01$) већи у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са присутном цервикагиналном инфекцијом када се упореди са апсолутним бројем ових ћелија у серуму мајке и серуму пупчаника у групи без детектоване цервикагиналне инфекције (табела 4.7.). У нашој студији подаци везани за CRP говоре у прилог статистички значајним ($p<0,01$) већим вредностима у групи са

присутном цервикагиналној инфекцијом у односу на групу без детектоване цервикагиналне инфекције.

Локализована цервикагинална инфекција због познатих одбрамбених, пре свега локалних, баријерних особина неће се одразити на пораст биохемијских параметара инфламације. Ипак, контагиозност и вирулентност микроорганизама, те напредовање инфламаторног процеса асцендентним и хематогеним путем, довешће до ових дијагностичких појава. Заштитну улогу у спречавању ширења инфекције имају и плодови овојци, мада они не представљају апсолутну баријеру. Није неопходно да они руптурирају да би бактерије биле присутне у амнионској шупљини. У прилог томе говори чињеница утврђивања иницијалне инфекције децидуе у супрацервикалном региону. Накнадно долази до умножавања бактерија и њиховог проласка кроз хориоамнионске мембране (94,95).

Обзиром на присутну статистичку значајност у нашој студији, као и услед пораста биохемијских инфламаторних параметара у серуму пупчаника, вероватно се радило о унапредовалој инфекцији, односно (бар започетом) FIRS-у. Овакав став је у директној вези са концептом патофизиологије настанка хориоамнионитиса узрокованог микроорганизмима, тз. “*triple P*” концепт – инфекција, инфламација и обоје (8,12). Иако ова теорија није наишла на широку подршку (8,108), наша студија је оправдава, а посебно у вези са руптуром плодовак овојака код доказане цервикагиналне инфекције у претерминском порођају.

Бактерије су чешће откривене у амнионској течности него у хориоамнионским мембранама (100% наспрам 33%) (96). Такође, бактерије се могу наћи у хориоамнионској опни (вероватно као иницијални степен инвазије), иако се као такве не могу изоловати из плодове воде (97). Сматра се да се тада неће десити покретање претерминског порођаја, већ тек када бактерије инвадирају амнионску шупљину (98). Тада се активира снажна инфламаторна реакција са порастом концентрације проинфламаторних цитокина и хемокина (4) што за последицу, између осталог има руптуру плодовак овојака.

Наша студија је показала да је апсолутни број Le је значајно већи у серуму мајке ($p < 0,01$) и серуму пупчаника ($p < 0,05$) у групи са руптуром плодовак овојака када се упореди са апсолутним бројем ових ћелија у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са порођајним контракцијама као иницијалним симптомом започетог порођаја (табела 4.8.). У нашој студији подаци везани за CRP говоре у прилог знатно већим, статистички значајним вредностима овог инфламаторног маркера у серуму мајке ($p < 0,01$) и серуму пупчаника ($p < 0,05$) у односу на компатибилне узорке у групи са порођајним контракцијама као иницијалним симптомом започетог порођаја.

Статистички мања, али присутна значајност у вредностима апсолутног броја Le и концентрације CRP у серуму пупчаника потврђује и досадашње претпоставке наше студије о започетом развоју FIRS-а, посебно у категорији хистолошки доказаних хориоамнионитиса са присутном цервикагиналној инфекцијом и руптуром плодовак овојака.

Анализа међусобне повезаности биохемијских параметара инфламације из серума мајке и серума пупчаника у нашој студији такође оправдава досадашња сазнања да постоји јака веза између броја Le и концентрације CRP из серума мајке, као и наведених испитиваних параметара из серума пупчаника. Такође, постоји умерена веза између концентрације CRP и концентрације FIB из серума мајке и серума пупчаника, као и броја Le и концентрације FIB из серума мајке и серума пупчаника (слика 4.8 и 4.9.).

Наше истраживање даље показује да постоји изузетно јака веза броја Le у серуму мајке и серуму пупчаника, као и концентрације CRP из серума мајке и серума пупчаника (слика 4.10 и 4.11.). На основу досадашњих резултата наше студије, односно испитивања улоге биохемијских параметара инфламације у претерминском порођају са хориоамнионитисом, може се закључити да број Le и концентрација CRP могу послужити као значајан маркер у овом инфламаторном процесу.

У нашој студији смо показали да постоје значајно већи нивои експресије IL-1 β , IL-6 и GAL-3 у децидуи, хорионским ресицама и плодовим овојцима у експерименталној у односу на контролну групу (графикон 4.11., 4.12 и 4.13.).

Инфламаторни процеси у различитим гестацијским ткивима су укључени у започињање терминског и претерминског порођаја (351). IL-1 β представља кључног посредника који је у фето-матерналном компартману одговоран за покретање порођаја (420). Експресија IL-1 β је повећана у децидуи, грлићу материце и плодовим овојцима током терминског порођаја (259,281,282). IL-1 β стимулише производњу простагландина из амниона, али и из децидуе. То је један од могућих механизма повезивања IL-1 β и порођаја у термину (251,254). Други могући механизам везан је за настанак асептичне инфламације, одвајања хориоамнионских мембрана од децидуе и повећане децидуалне производње IL-1 β , који даље истим физиолошким процесом (стимулацијом продукције простагландина) покреће физиолошки порођај (101,251). У сваком случају пораст концентрације IL-1 β представља сигнал за почетак порођаја.

IL-1 β је пријављен као кључни индуктор инфламације код претерминског порођаја везивањем за његов свеприсутно експримирани рецептор IL-1-RI, што доводи до активације и појачања инфламаторне каскаде (421). Иницијација претерминског порођаја се једноставно може приписати покретањем комплексних молекуларних процеса индукованим оштећењем (механичким или физичким) или патогеним агенсима (инфекција) (256). Механизам је усмерен на активацију *toll like* рецептора експримираних на плодовим овојцима, децидуи и плацентном ткиву, на имунским и неимунским ћелијама (267), а чија активација доводи до покретања инфламаторног одговора, хемокинске активности и екстравазације леукоцита из периферног ткива у гестациска ткива (268). Повећана екстравазација леукоцита, настала активацијом ових рецептора, изазива и повећано лучење проинфламаторних цитокина (пре свега IL-1 β), а који простагландинском активношћу доводе до покретања претерминског порођаја (256,271). Из тог разлога, ови проинфламаторни цитокини, а посебно IL-1 β , називају се утеротрофинима – активаторима гравидне материце (272-274). Детектује се и у крви мајке код претерминског порођаја (284), постељици и плодовим овојцима код инфекције, али и у ткиву материце (285-288).

Ову тврдњу делимично поткрепљују подаци из наше студије где је показана повећана експресија IL-1 β у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи постељица са хориоамнионитисом, из порођаја који су наступили пре очекиваног термина (графикон 4.11.). Ипак, нешто већи нивои експресије IL-1 β су откривени у плодовим овојцима и децидуи него у ресицама (слика 4.3.), што указује на могуће двоструко порекло интра-амнионске инфекције: хематогено и асцендентно. Међутим, анализа међусобне повезаности експресије IL-1 β у различитим компартманима постељице у нашој студији, показује да постоји умерена, позитивна корелација само између експресије IL-1 β у хорионским ресицама и експресије IL-1 β у децидуи (4.36). Овај налаз сугерише о могућем преодминантом хематогеном ширењу инфекције.

Релативна експресија IL-1 β (у односу на GADPH) у ткиву постелице приказана је на графикону 4.14., а који нам даје податак о изузетној статистички значајној разлици у експресији IL-1 β ($p < 0.01$) у корист групе са хистолошки потврђеним хориоамнионитисом. Исти резултат нам је приказан и на графикону 4.18., те повећаној експресији IL-1 β (у односу на GADPH) у ткиву постелице код порођаја са верификованом цервикагиналном инфекцијом.

IL-1 β је такође пријављен као први цитокин који игра улогу у претерминском порођају који је повезан са интра-амнионским инфекцијама (41), и цитокин који је системски даван мишевима (262) и интра-амнионски резус мајмунима (422) ради изазивања хориоамнионитиса и претерминског порођаја.

Уочено је повећано присуство IL-1 β у вагиналном секрету жена са ризиком од превременог порођаја (423). Поред тога, забележено је значајно повећање експресије IL-1 β у децидуама спонтаних и рекурентних побачаја (424). Овде смо пријавили значајно већу експресију IL-1 β у децидуи, хорионским ресицама и плодовим овојцима у експерименталној групи у односу на контролну (слика 4.2.), што смо и потврдили горе наведеним резултатима наше студије. Наши резултати су у складу са претходним извештајима у вези са улогом IL-1 β у индукцији и појачавању инфламаторне каскаде која доводи до претерминског порођаја (421).

Поред продукције IL-1 β посредоване инфламазомима, постоји неколико ћелијско-специфичних процеса независних од инфлазома који су укључени у активацију IL-1 β (425). Постоје докази који сугеришу да урођене имуне ћелије (неутрофили, макрофаги и мастоцити) посредују у процесу порођаја ослобађањем проинфламаторних фактора као што су цитокини, хемокини и матрикс металопротеиназе (426). Инфламаторни неутрофили су присутни у материци, децидуи, грлићу материце и плодовим овојцима (281) где учествују у порођају индукујући лучење инфламаторних цитокина и матрикс металопротеиназа (55,427). Инфламаторни медијатори који се ослобађају из неутрофила такође учествују у процесу претерминског порођаја (428). Наши резултати показују да би повећана експресија IL-1 β у децидуи и плодовим овојцима током претерминског и терминског порођаја могла бити углавном посредована ензимима који се ослобађају из неутрофила или других урођених имуних ћелија за које се зна да се инфилтрирају у ова ткива током порођаја (426).

Запажа се значајно већа концентрација IL-1 β у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са хориоамнионитисом у односу на контролну групу. Такође, концентрације IL-1 β у серуму мајке су незнатно веће од концентрације IL-1 β у серуму пупчаника, како у групи са хориоамнионитисом, тако и у контролној групи. Постоји статистички значајна разлика у концентрацији IL-1 β у серуму мајке ($p < 0.01$) као и у концентрацији IL-1 β у серуму пупчаника ($p < 0.05$) између испитиваних група (графикон 4.26). Ови подаци одговарају онима из досадашње литературе (284).

Анализа међусобне повезаности релативне експресије IL-1 β у ткиву постелице са концентрацијама испитиваних цитокина из серума мајке и серума пупчаника приказана је на слици 4.20. Она показује да постоји јака, позитивна корелација између релативне експресије IL-1 β у ткиву постелице и концентрације IL-1 β у серуму мајке и серуму пупчаника. Ова чињеница нам говори да пораст концентрације IL-1 β може одражавати његов пораст у ткиву постелице, као и да је повећање концентрације IL-1 β одраз његове повећане експресије у постелици. Међутим, анализа међусобне повезаности концентрације IL-1 β из серума мајке и серума пупчаника показује позитивну, али слабу

корелацију. Нема података у литератури који су до сад аиспитивали везу овог цитокина у серуму мајке и серуму пупчаника.

У нашој студији, показана је и значајно већа концентрација IL-1 β у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са цервикавагиналном инфекцијом у односу на групу без присутне цервикавагиналне инфекције. Такође, концентрације IL-1 β у серуму мајке су незнатно веће од концентрације IL-1 β у пупчаника како у групи са цервикавагиналном инфекцијом, тако и у групи без присутне цервикавагиналне инфекције. Постоји статистички значајна разлика у концентрацији IL-1 β у серуму мајке ($p < 0.01$) као и у концентрацији IL-1 β у серуму пупчаника ($p < 0.05$) између испитиваних група (графикон 4.30). У литератури нема идентичних података о вредностима ових инфламаторних параметара код хориоамнионитиса са цервикавагиналном инфекцијом и њиховим корелацијама.

Већу експресију IL-1 β у овим ткиву постелице пратили су и виши серумски нивои маркера упале, броја Le, концентрације CRP и FIB у крви мајке и пупчаника при порођају (слике 4.13.-4.17). Такође, повећана експресија IL-1 β у серуму мајке прати повећање овог инфламаторног медијатора у серуму пупчаника (слика 4.21.) што до сада у литератури није публиковано. Већу експресију IL-1 β у серуму мајке и серуму пупчаника пратили су и виши серумски нивои маркера упале, броја Le, концентрације CRP и FIB у серуму мајке и пупчаника при порођају (слике 4.22.-4.27). Досадашње студије нису показале овако детаљну анализу повезаности биохемијских инфламаторних маркера и експресије IL-1 β у ткиву постелице, серуму мајке и серуму пупчаника.

Кумулативно се може закључити да IL-1 β има јако добру везу са биохемијским инфламаторним маркерима, те да његова експресија у ткиву постелице и серуму мајке и пупчаника, углавном корелира (надасве) са бројем Le и концентрацијом CRP у серуму мајке и пупчаника. Такође, корелирају и вредности IL-1 β у ткиву постелице и серуму мајке и пупчаника, тако да он може послужити као значајан маркер у детекцији и предвиђању претерминског порођаја праћеног хориоамнионитисом.

Производња IL-1 β може стимулисати (429) и појачати производњу GAL-3 (430). У складу са овим, пронашли смо значајну корелацију између експресије GAL-3 и IL-1 β у децидуи, хорионским ресицама и плодовим овојцима (слика 4.19 и 4.38.). Позната је повећана експресија GAL-3 на нивоима mRNK и протеина у децидуи код људи током спонтаног терминског порођаја (431). Нижа експресија GAL-3 на оба нивоа mRNK и протеина пронађена је у децидуи код спонтаног порођаја у термину у односу на узорке децидуе пацијената који су били подвргнути елективном царском резу у термину (431). Друга студија је пријавила повећану експресију GAL-3 у плодовим овојцима и у амнионском епителу код хориоамнионске инфекције и превремене претерминске руптуре плозових мембрана, што указује на улогу GAL-3 у инфламаторним одговорима код хориоамнионитиса и/или у директној је интеракцији са патогенима (351).

Поред тога, повишени нивои GAL-3 у серуму мајке нађени су у трудноћама које су компликоване превременом претерминском руптуром плозових овојака (432) као и у крви недоношчади рођене у доказаном хориоамнионитису, али нема података о томе да ли GAL-3 посредује у претерминском порођају изазваном упалом, па би то, према томе, то могло бити мета за клиничка испитивања (433).

GAL-3 је експримиран у високом проценту у експерименталној групи наше студије, у сва три компартмана постеличног ткива. Већи проценат позитивних тестираних узорака пронађен је у групи са хориоамнионитисом у односу на контролну групу (графикон 4.13.). Ниво експресије GAL-3 је био значајно виши ($p < 0,001$) у

плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи у експерименталној групи у односу на контролну групу (слика 4.6). Већи нивои експресије GAL-3 су откривени у плодовим овојцима и децидуи него у ресицама у обе групе, експерименталној и контролној (слика 4.7.). Такође, запажамо интензивнију експресију GAL-3 у групи са позитивним цервикагиналним брисевима у односу на групу без присутне цервикагиналне инфекције (графикон 4.21.).

Недавна студија је пријавила повећану експресију и јаке резултате бојења у плаценталним екстравилозним трофобластним ткивима, као и виши ниво GAL-3 у крви мајке код спонтаних претерминских порођаја у поређењу са спонтаним терминским порођајима (434). Повећана експресија је повезана са већим процентом трофобласта са кратким теломерима, што указује да повећано старење и упала могу бити фактори који су укључени у спонтани претермински порођај (434). Наши резултати повећане експресије GAL-3 у узорцима ткива децидуе, хорионских ресица и плодова овојака у експерименталној групи (графикон 4.13 и 4.17.) су у складу са резултатима претходних студија.

У корелацији са овим су и резултати експерименталне студије на мишевима која је пријавила значајно повећање GAL-3 у плаценти, амнионској течности и серуму мишева који су били подвргнути превременим порођајима изазваним денталним инфекцијама (323). GAL-3 је такође стимулисао производњу инфламаторних цитокина који доприносе развоју претерминског порођаја, сугеришући имуномодулаторну/проинфламаторну улогу GAL-3 у претерминском порођају и указујући на GAL-3 као потенцијалну терапију и/или дијагностичку мету која може смањити појаву претерминског порођаја (323).

Повећана експресија GAL-3 у серуму мајке у нашој студији прати повећање овог инфламаторног медијатора у серуму пупчаника (слика 4.21.) што може говорити у прилогу започетог FIRS–а. Већу експресију GAL-3 у серуму мајке пратили су и виши серумски нивои маркера упале, броја Le, концентрације CRP и FIB у серуму мајке и пупчаника при порођају (слике 4.22.-4.26.) Број Le из серума мајке и број Le из серума пупчаника у нашој студији корелира са експресијом GAL-3 у плодовим овојцима, хорионским ресицама и децидуи (слика 4.29. и 4.33.). GAL-3 с тога може бити важан маркер у детекцији, али и контролисању успеха терапије хориоамнионитиса или предикцији претерминског порођаја праћеног хориоамнионитисом

Запажа се већа концентрација GAL-3 у серуму мајке и серуму пупчаника у групи са хориоамнионитисом у односу на контролну групу, али и у серуму мајке са позитивним цервикагиналним брисевима (графикон 4.29. и 4.33.). Већу експресију GAL-3 у постелици у експерименталној групи пратили су и виши серумски нивои маркера упале, броја Le, концентрације CRP и FIB у крви мајке и пупчаника при порођају (слике 4.13.-4.18.).

Поред тога, ми смо у нашем истраживању пружили прве доказе да је експресија IL-1 β у децидуама и плодовим овојцима у време порођаја у корелацији са експресијом GAL-3 у обе групе, експерименталној и контролној (слика 4.19 и 4.38), што је од значаја да даље тумачење потенцијалне имунолошке теорије у патогенези претерминског порођаја.

Експресија IL-6 у нашој студији дала је опречне резултате. Тачна улога IL-6 у порођају још увек није разјашњена. Међутим, зна се да IL-6 стимулише производњу простагландина и окситоцина, који изазивају сазревање грлића материце и материчне контракције. Синтеза простагландина стимулисаног IL-6 дешава се у децидуалним

ћелијама и плодовим овојцима (384). Под утицајем IL-6 долази и до повећања експресије рецептора за окситоцин на глатким мишићним ћелијама материце (396), а истезање материце доводи до повећане продукције проинфламаторних цитокина (међу којима и IL-6) чиме се ствара један узрочно последични процес. Међутим IL-6 сам по себи није довољан да покрене порођај, што је доказано у експерименталним условима (384).

IL-6 је у нашем истраживању био експримиран у високом проценту у експерименталној групи, у сва три компартмана. Већи проценат IL-6 позитивних тестираних узорака пронађен је у групи са хориоамнионитисом у односу на контролну групу (графикон 4.12.). Током порођаја, концентрација IL-6 се повећана скоро 2 пута у односу на вредности у трудноћи и пре трудноће. Постоји позитивна корелација концентрације IL-6 и гестацијске старости (397,399). Наши резултати су у складу са подацима из литературе, међутим нема информација у литератури о разлици у експресији овог цитокина у различитим компартманима постеличног ткива код претерминског и терминског порођаја, а о чему наша студија прва даје такве податке.

Полазећи од познате чињенице да IL-6 стимулише производњу АСТН и следствену продукцију кортизола, долазимо до још једне могуће теорије о покретању порођаја активацијом и стимулацијом материчних контракција. Ова улога се приписује углавном феталном IL-6 (397,400). Овом чињеницом се вероватно објашњава повећана експресија IL-6 у групи са порођајним боловима као доминатним симптомом покретања порођаја (графикон 4.23. и графикон 4.35.). Међутим, ми нисмо добили статистички значајно повећање експресије IL-6 у ткиву постелице код хориоамнионитиса и код позитивних цервикагиналних брисева (графикон 4.15. и 4.19.) што је делимично и у складу са подацима из литературе.

Мерење циркулишуће концентрације IL-6 показује да је овај цитокин повећан у крви трудница у односу на негравидну популацију (384,385). Међутим, информације о варијацији концентрације IL-6 у односу на гестацијску старост су опречне. Неколико студија извештава о повећању циркулишућег IL-6 са напредовањем гестације (384-387), док друге наводе да нема промена у његовој концентрацији (384,388) или да се чак смањује како се трудноћа приближава термину (384,389).

Ретке су студије које су одређивале концентрацију IL-6 у серуму гравидне хумане популације. Углавном је концентрација овог цитокина одређивана у серуму. Наша студија је утврдила да су концентрације IL-6 у серуму мајке и серуму пупчаника у експерименталној групи и контролној групи обрнуто пропорционалне. Концентрација IL-6 у серуму мајке је знатно мања у експерименталној групи у односу на контролну групу. Док је концентрација IL-6 у серуму пупчаника знатно већа у експерименталној него у контролној групи (графикон 4.27.). То се објашњава повећаном продукцијом феталног IL-6, вероватно и додатно подстакутог присутним хориоамнионитисом. Упркос разликама у концентрацији IL-6 није утврђена статистички значајна разлика између испитиваних група.

Повећана концентрација IL-6 нађена је у амнионској течности, цервикагиналном брису и у плазми трудница чије су трудноће завршене порођајем пре 37. недеље гестације у односу на труднице са терминским порођајем (397,403). Да фетални IL-6 игра веома битну улогу у започињању претерминског порођаја доказују и подаци из нашег истраживања где је детектована повећана концентрација IL-6 у серуму пупчаника у односу на серум мајке код детектоване цервикагиналне инфекције (графикон 4.31.). Наведене чињенице оправдавају сумњу на започети FIRS.

Анализа међусобне повезаности IL-6 у ткиву постелице, серуму мајке и пупчаника, у нашој студији, није показала значајну повезаност са биохемијским маркерима инфламације, нити са преосталим испитиваним цитокинима у серуму мајке, серуму пупчаника и ткиву постелице.

Наша студија је показала интензивнију експресију IL-33 у групи са хориоамнионитисом у односу на контролну групу, а након спроведене PCR анализе постеличног ткива (графикон 4.16.). Такође се запажа интензивнија експресија овог цитокина у групи са присутном цервикагиналном инфекцијом, у односу на групу без цервикагиналне инфекције (графикон 4.20.). Међутим није утврђена статистички значајна разлика у експресији овог цитокина између испитиваних група. Међутим, имунохистохемијска анализа постеличног ткива (сва три компартмана) није показала позитивно бојење нити у једном узорку. Обзиром да плацентне ресице садрже у трећем триместру трудноће мању количину макрофага, долазимо до објашњења слабије детекције (или потпуног недостатка) (136).

Да би дошло до приказивања IL-33 у (неактивним) макрофагима, неопходна је њихова активација – стимулација или апоптоза, чиме се објашњава (онда када се у анализи детектује) појава IL-33 позитивних макрофага у случајевима претерминског порођаја са акутним хориоамнионитисом, у односу на претерминске порођаје без инфламације (136). У случају претерминског порођаја праћеног акутним хориоамнионитисом експресија IL-33 нађена је у хориоамнионским мембранама и пупчанику, али не и у ткиву постелице. Није типична појава IL-33 у макрофагима постелица из претерминских порођаја без хориоамнионитиса.

Наша студија је показала да је концентрација IL-33 у серуму мајке незнатно већа у групи са хориоамнионитисом у односу на контролну групу. У серуму пупчаника концентрације IL-33 су идентичне у експерименталној и контролној групи наше студије. Није утврђена статистички значајна разлика у концентрацији IL-33 између испитиваних група како у серуму мајке тако и у серуму пупчаника (графикон 4.28.). Такође, анализа међусобне повезаности IL-33 у ткиву постелице, серуму мајке и пупчаника, у нашој студији, није показала значајну повезаност са биохемијским маркерима инфламације, нити са преосталим испитиваним цитокинима у серуму мајке, серуму пупчаника и ткиву постелице.

6. ЗАКЉУЧЦИ

Главни закључак:

Наша студија је показала да постоји повезаност експресије GAL-3 и IL-1 β у претерминском порођају са хориоамнионитисом, како у ткиву постељице, тако и у серуму мајке и у серуму пупчаника.

Ови резултати ће послужити као основа за даља истраживања комплексне патогенезе настанка претерминског порођаја, посебно компликованог хориоамнионитисом.

Остали закључци:

1. Број Le и концентрације CRP и FIB су знатно веће у серуму мајке и серуму пупчаника код претерминског порођаја са хориоамнионитисом у односу на термински порођај без хориоамнионитиса.
2. Број Le и концентрације CRP су знатно веће у току порођаја у серуму мајке и серуму пупчаника код присутне цервиковагинална инфекције у односу на групу без цервиковагинална инфекције.
3. Број Le и концентрације CRP су знатно веће у току порођаја у серуму мајке и серуму пупчаника код руптуре плодоваих овојака као доминантним знаком покретања порођаја у односу на групу са порођајним боловима као доминантним симптомом покретања порођаја.
4. Експресија IL-1 β , GAL-3 и IL-6 (детектована ИНС методом) је израженија у сва три компартмана постељице (плодови овојци, хорионске ресице и децидуа) код претерминског порођаја са хориоамнионитисом у односу на термински порођај без хориоамнионитиса.
5. Експресија IL-1 β и GAL-3 (детектована PCR методом) је израженија у ткиву постељице код претерминског порођаја са хориоамнионитисом у односу на термински порођај без хориоамнионитиса.
6. Експресија IL-1 β и GAL-3 (детектована PCR методом) је израженија у ткиву постељице код присутне цервиковагинална инфекције у односу на групу без цервиковагинална инфекције.
7. Концентрација IL-1 β и GAL-3 (детектована ELISA методом) је израженија у серуму мајке и серуму пупчаника код претерминског порођаја са хориоамнионитисом у односу на термински порођај без хориоамнионитиса.
8. Концентрација IL-1 β (детектована ELISA методом) је израженија у серуму мајке и серуму пупчаника код присутне цервиковагинална инфекције у односу на групу без цервиковагинална инфекције.
9. Концентрација GAL-3 (детектована ELISA методом) је израженија у серуму мајке код присутне цервиковагинална инфекције у односу на групу без цервиковагинална инфекције.
10. Постоји повезаност између биохемијских параметара инфламације (Le, CRP и FIB) из серума мајке и серума пупчаника код претерминског порођаја са хориоамнионитисом.
11. Постоји повезаност између биохемијских параметара инфламације (Le, CRP и FIB) из серума мајке и серума пупчаника и експресије IL-1 β и GAL-3 (детектоване PCR методом) у ткиву постељице.
12. Постоји повезаност између релативне експресије IL-1 β и релативне експресије GAL-3 (детектоване PCR методом) у ткиву постељице.

13. Постоји повезаност између релативне експресије IL-1 β у ткиву постељице (детектоване PCR методом) и концентрације IL-1 β из серума мајке и серума пупчаника (детектоване ELISA методом).
14. Постоји повезаност између концентрације IL-1 β и GAL-3 из серума мајке и са концентрацијама IL-1 β и GAL-3 из серума пупчаника (детектоване ELISA методом).
15. Постоји повезаност између биохемијских параметара инфламације из серума мајке и серума пупчаника са концентрацијом IL-1 β из серума мајке и серума пупчаника и са концентрацијом GAL-3 из серума мајке (детектоване ELISA методом).
16. Постоји повезаност између биохемијских параметара инфламације из серума мајке и серума пупчаника и експресије IL-1 β и GAL-3 у одређеним деловима постељице (детектоване ИНС методом).
17. Постоји међусобна повезаност између експресије IL-1 β и GAL-3 у одређеним деловима постељице (детектоване ИНС методом).
18. У нашој студији није нађена повезаност експресије IL-6 и IL-33 са експресијом GAL-3 и IL-1 β у претерминском порођају са хориоамнионитисом, како у ткиву постељице, тако ни у серуму мајке и у серуму пупчаника.
19. Није нађена ни међусобна повезаност експресије IL-6 и IL-33 у претерминском порођају са хориоамнионитисом, како у ткиву постељице, тако ни у серуму мајке и у серуму пупчаника.

ЛИТЕРАТУРА

ЛИТЕРАТУРА

1. Baergen RN. The placenta as witness. *Clin Perinatol*. 2007 Sep;34(3):393-407.
2. Torricelli M, Voltolini C, Toti P, Vellucci FL, Conti N, Cannoni A, Moncini I, Occhini R, Severi FM, Petraglia F. Histologic chorioamnionitis: different histologic features at different gestational ages. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2014 Jun;27(9):910-3.
3. Altshuler G. Some placental considerations in alleged obstetrical and neonatology malpractice. *Leg Med*. 1993:27-47.
4. Kim CJ, Romero R, Chaemsaihong 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.
5. Redline RW, Faye-Petersen O, Heller D, Qureshi F, Savell V, Vogler C; Society for Pediatric Pathology, Perinatal Section, Amniotic Fluid Infection Nosology Committee. Amniotic infection syndrome: nosology and reproducibility of placental reaction patterns. *Pediatr Dev Pathol*. 2003 Sep-Oct;6(5):435-48.
6. Pacora P, Chaiworapongsa T, Maymon E, Kim YM, Gomez R, Yoon BH, Ghezzi F, Berry SM, Qureshi F, Jacques SM, Kim JC, Kadar N, Romero R. Funisitis and chorionic vasculitis: the histological counterpart of the fetal inflammatory response syndrome. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2002 Jan;11(1):18-25.
7. Hastings-Tolsma M, Bernard R, Brody MG, Hensley J, Koschoreck K, Patterson E. Chorioamnionitis: prevention and management. *MCN Am J Matern Child Nurs*. 2013 Jul-Aug;38(4):206-12; quiz 213-4.
8. Higgins RD, Saade G, Polin RA, Grobman WA, Buhimschi IA, Watterberg K, Silver RM, Raju TNK; 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):426-436.
9. Menon R, Taylor RN, Fortunato SJ. Chorioamnionitis--a complex pathophysiologic syndrome. *Placenta*. 2010 Feb;31(2):113-20.
10. Peng CC, Chang JH, Lin HY, Cheng PJ, Su BH. Intrauterine inflammation, infection, or both (Triple I): A new concept for chorioamnionitis. *Pediatr Neonatol*. 2018 Jun;59(3):231-237.
11. Su BH. Histological chorioamnionitis and neonatal outcome in preterm infants. *Pediatr Neonatol*. 2014 Apr;55(2):154-5.
12. Maisonneuve E, Ancel PY, Foix-L'Hélias L, Marret S, Kayem G. Impact of clinical and/or histological chorioamnionitis on neurodevelopmental outcomes in preterm infants: A literature review. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2017 Apr;46(4):307-316.
13. Mazaki-Tovi S, Vaisbuch E. Clinical chorioamnionitis--an ongoing obstetrical conundrum. *J Perinat Med*. 2016 Jan;44(1):1-4.
14. Tita AT, Andrews WW. Diagnosis and management of clinical chorioamnionitis. *Clin Perinatol*. 2010 Jun;37(2):339-54.
15. Czik MJ, McCarthy FP, Murphy KE. Chorioamnionitis: from pathogenesis to treatment. *Clin Microbiol Infect*. 2011 Sep;17(9):1304-11.

16. Newton ER. Chorioamnionitis and intraamniotic infection. *Clin Obstet Gynecol*. 1993 Dec;36(4):795-808.
17. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med*. 2000 May 18;342(20):1500-7.
18. Redline RW. Inflammatory response in acute chorioamnionitis. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2012 Feb;17(1):20-5.
19. 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.
20. Kim CJ, Romero R, Kusanovic JP, Yoo W, Dong Z, Topping V, Gotsch F, Yoon BH, Chi JG, Kim JS. The frequency, clinical significance, and pathological features of chronic chorioamnionitis: a lesion associated with spontaneous preterm birth. *Mod Pathol*. 2010 Jul;23(7):1000-11.
21. Lee J, Kim JS, Park JW, Park CW, Park JS, Jun JK, Yoon BH. Chronic chorioamnionitis is the most common placental lesion in late preterm birth. *Placenta*. 2013 Aug;34(8):681-9.
22. Edwards RK. Chorioamnionitis and labor. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2005 Jun;32(2):287-96, x.
23. Nasef N, Shabaan AE, Schurr P, Iaboni D, Choudhury J, Church P, Dunn MS. Effect of clinical and histological chorioamnionitis on the outcome of preterm infants. *Am J Perinatol*. 2013 Jan;30(1):59-68.
24. Adams-Chapman I, Stoll BJ. Neonatal infection and long-term neurodevelopmental outcome in the preterm infant. *Curr Opin Infect Dis*. 2006 Jun;19(3):290-7.
25. Conti N, Torricelli M, Voltolini C, Vannuccini S, Clifton VL, Bloise E, Petraglia F. Term histologic chorioamnionitis: a heterogeneous condition. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2015 May;188:34-8.
26. Lee SM, Lee KA, Kim SM, Park CW, Yoon BH. The risk of intra-amniotic infection, inflammation and histologic chorioamnionitis in term pregnant women with intact membranes and labor. *Placenta*. 2011 Jul;32(7):516-21.
27. Roberts DJ, Celi AC, Riley LE, Onderdonk AB, Boyd TK, Johnson LC, Lieberman E. Acute histologic chorioamnionitis at term: nearly always noninfectious. *PLoS One*. 2012;7(3):e31819.
28. Miralles R, Hodge R, McParland PC, Field DJ, Bell SC, Taylor DJ, Grant WD, Kotecha S. Relationship between antenatal inflammation and antenatal infection identified by detection of microbial genes by polymerase chain reaction. *Pediatr Res*. 2005 Apr;57(4):570-7.
29. Romero R, Miranda J, Kusanovic JP, Chaiworapongsa T, Chaemsaihong P, Martinez A, Gotsch F, Dong Z, Ahmed AI, Shaman M, Lannaman K, Yoon BH, Hassan SS, Kim CJ, Korzeniewski SJ, Yeo L, Kim YM. Clinical chorioamnionitis at term I: microbiology of the amniotic cavity using cultivation and molecular techniques. *J Perinat Med*. 2015 Jan;43(1):19-36.
30. Rouse DJ, Landon M, Leveno KJ, Leindecker S, Varner MW, Caritis SN, O'Sullivan MJ, Wapner RJ, Meis PJ, Miodovnik M, Sorokin Y, Moawad AH, Mabie W, Conway D, Gabbe SG, Spong CY; National Institute of Child Health And Human Development, Maternal-Fetal Medicine Units Network. The Maternal-Fetal Medicine Units cesarean registry:

chorioamnionitis at term and its duration-relationship to outcomes. *Am J Obstet Gynecol.* 2004 Jul;191(1):211-6.

31. Romero R, Quintero R, Oyarzun E, Wu YK, Sabo V, Mazor M, Hobbins JC. Intraamniotic infection and the onset of labor in preterm premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1988 Sep;159(3):661-6.

32. Romero R, Chaemsaihong P, Korzeniewski SJ, Tarca AL, Bhatti G, Xu Z, Kusanovic JP, Dong Z, Docheva N, Martinez-Varea A, Yoon BH, Hassan SS, Chaiworapongsa T, Yeo L. Clinical chorioamnionitis at term II: the intra-amniotic inflammatory response. *J Perinat Med.* 2016 Jan;44(1):5-22.

33. Romero R, Chaemsaihong P, Docheva N, Korzeniewski SJ, Kusanovic JP, Yoon BH, Kim JS, Chaayasit N, Ahmed AI, Qureshi F, Jacques SM, Kim CJ, Hassan SS, Chaiworapongsa T, Yeo L, Kim YM. Clinical chorioamnionitis at term VI: acute chorioamnionitis and funisitis according to the presence or absence of microorganisms and inflammation in the amniotic cavity. *J Perinat Med.* 2016 Jan;44(1):33-51.

34. Steel JH, O'donoghue K, Kennea NL, Sullivan MH, Edwards AD. Maternal origin of inflammatory leukocytes in preterm fetal membranes, shown by fluorescence in situ hybridisation. *Placenta.* 2005 Sep-Oct;26(8-9):672-7.

35. McNamara MF, Wallis T, Qureshi F, Jacques SM, Gonik B. Determining the maternal and fetal cellular immunologic contributions in preterm deliveries with clinical or subclinical chorioamnionitis. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 1997;5(4):273-9

36. Sampson JE, Theve RP, Blatman RN, Shipp TD, Bianchi DW, Ward BE, Jack RM. Fetal origin of amniotic fluid polymorphonuclear leukocytes. *Am J Obstet Gynecol.* 1997 Jan;176(1 Pt 1):77-81.

37. Kim CJ, Yoon BH, Kim M, Park JO, Cho SY, Chi JG. Histo-topographic distribution of acute inflammation of the human umbilical cord. *Pathol Int.* 2001 Nov;51(11):861-5.

38. Holcroft CJ, Askin FB, Patra A, Allen MC, Blakemore KJ, Graham EM. Are histopathologic chorioamnionitis and funisitis associated with metabolic acidosis in the preterm fetus? *Am J Obstet Gynecol.* 2004 Dec;191(6):2010-5.

39. Park CW, Moon KC, Park JS, Jun JK, Romero R, Yoon BH. The involvement of human amnion in histologic chorioamnionitis is an indicator that a fetal and an intra-amniotic inflammatory response is more likely and severe: clinical implications. *Placenta.* 2009 Jan;30(1):56-61.

40. Lee DC, Romero R, Kim CJ, Chaiworapongsa T, Tarca AL, Lee J, Suh YL, Mazaki-Tovi S, Vaisbuch E, Mittal P, Draghici S, Erez O, Kusanovic JP, Hassan SS, Kim JS. Surfactant protein-A as an anti-inflammatory component in the amnion: implications for human pregnancy. *J Immunol.* 2010 Jun 1;184(11):6479-91.

41. Romero R, Mazor M, Munoz H, Gomez R, Galasso M, Sherer DM. The preterm labor syndrome. *Ann N Y Acad Sci.* 1994 Sep 30;734:414-29.

42. Holzman C, Lin X, Senagore P, Chung H. Histologic chorioamnionitis and preterm delivery. *Am J Epidemiol.* 2007 Oct 1;166(7):786-94.

43. Newton ER. Preterm labor, preterm premature rupture of membranes, and chorioamnionitis. *Clin Perinatol.* 2005 Sep;32(3):571-600.

44. Murphy HS. Inflammation. In: Strayer DS, Rubin E, editors. Rubin's Pathology. 6th ed. China: Lippincott Williams & Wilkins; 2012:47-82.
45. Ernst LM, Crouch J, Rinder H, Howe JG. Bacterial etiology for chronic villitis is not supported by polymerase chain reaction for 16S rRNA DNA. *Pediatr Dev Pathol*. 2005 Nov-Dec;8(6):647-53.
46. Kim MJ, Romero R, Kim CJ, Tarca AL, Chhauy S, LaJeunesse C, Lee DC, Draghici S, Gotsch F, Kusanovic JP, Hassan SS, Kim JS. Villitis of unknown etiology is associated with a distinct pattern of chemokine up-regulation in the feto-maternal and placental compartments: implications for conjoint maternal allograft rejection and maternal anti-fetal graft-versus-host disease. *J Immunol*. 2009 Mar 15;182(6):3919-27.
47. Lee J, Romero R, Xu Y, Kim JS, Topping V, Yoo W, Kusanovic JP, Chaiworapongsa T, Hassan SS, Yoon BH, Kim CJ. A signature of maternal anti-fetal rejection in spontaneous preterm birth: chronic chorioamnionitis, anti-human leukocyte antigen antibodies, and C4d. *PLoS One*. 2011 Feb 4;6(2):e16806.
48. Lee J, Romero R, Xu Y, Kim JS, Park JY, Kusanovic JP, Chaiworapongsa T, Hassan SS, Kim CJ. Maternal HLA panel-reactive antibodies in early gestation positively correlate with chronic chorioamnionitis: evidence in support of the chronic nature of maternal anti-fetal rejection. *Am J Reprod Immunol*. 2011 Dec;66(6):510-26.
49. Lee J, Romero R, Chaiworapongsa T, Dong Z, Tarca AL, Xu Y, Chiang PJ, Kusanovic JP, Hassan SS, Yeo L, Yoon BH, Than NG, Kim CJ. Characterization of the fetal blood transcriptome and proteome in maternal anti-fetal rejection: evidence of a distinct and novel type of human fetal systemic inflammatory response. *Am J Reprod Immunol*. 2013 Oct;70(4):265-84.
50. Lee J, Romero R, Xu Y, Miranda J, Yoo W, Chaemsaitong P, Kusanovic JP, Chaiworapongsa T, Tarca AL, Korzeniewski SJ, Hassan SS, Than NG, Yoon BH, Kim CJ. Detection of anti-HLA antibodies in maternal blood in the second trimester to identify patients at risk of antibody-mediated maternal anti-fetal rejection and spontaneous preterm delivery. *Am J Reprod Immunol*. 2013 Aug;70(2):162-75.
51. Lee K, Kim YW, Shim JY, Won HS, Lee PR, Kim A, Kim CJ. Distinct patterns of C4d immunoreactivity in placentas with villitis of unknown etiology, cytomegaloviral placentitis, and infarct. *Placenta*. 2013 May;34(5):432-5.
52. Rudzinski E, Gilroy M, Newbill C, Morgan T. Positive C4d immunostaining of placental villous syncytiotrophoblasts supports host-versus-graft rejection in villitis of unknown etiology. *Pediatr Dev Pathol*. 2013 Jan-Feb;16(1):7-13.
53. Kim JS, Romero R, Kim MR, Kim YM, Friel L, Espinoza J, Kim CJ. Involvement of Hofbauer cells and maternal T cells in villitis of unknown aetiology. *Histopathology*. 2008 Mar;52(4):457-64.
54. Myerson D, Parkin RK, Benirschke K, Tschetter CN, Hyde SR. The pathogenesis of villitis of unknown etiology: analysis with a new conjoint immunohistochemistry-in situ hybridization procedure to identify specific maternal and fetal cells. *Pediatr Dev Pathol*. 2006 Jul-Aug;9(4):257-65.
55. Romero R, Ceska M, Avila C, Mazor M, Behnke E, Lindley I. Neutrophil attractant/activating peptide-1/interleukin-8 in term and preterm parturition. *Am J Obstet Gynecol*. 1991 Oct;165(4 Pt 1):813-20.

56. Cherouny PH, Pankuch GA, Romero R, Botti JJ, Kuhn DC, Demers LM, Appelbaum PC. Neutrophil attractant/activating peptide-1/interleukin-8: association with histologic chorioamnionitis, preterm delivery, and bioactive amniotic fluid leukoattractants. *Am J Obstet Gynecol.* 1993 Nov;169(5):1299-303.
57. Puchner T, Egarter C, Wimmer C, Lederhilger F, Weichselbraun I. Amniotic fluid interleukin-8 as a marker for intraamniotic infection. *Arch Gynecol Obstet.* 1993;253(1):9-14.
58. Gomez R, Ghezzi F, Romero R, Muñoz H, Tolosa JE, Rojas I. Premature labor and intra-amniotic infection. Clinical aspects and role of the cytokines in diagnosis and pathophysiology. *Clin Perinatol.* 1995 Jun;22(2):281-342.
59. Yoon BH, Romero R, Jun JK, Park KH, Park JD, Ghezzi F, Kim BI. Amniotic fluid cytokines (interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-8) and the risk for the development of bronchopulmonary dysplasia. *Am J Obstet Gynecol.* 1997 Oct;177(4):825-30.
60. Ghezzi F, Gomez R, Romero R, Yoon BH, Edwin SS, David C, Janisse J, Mazor M. Elevated interleukin-8 concentrations in amniotic fluid of mothers whose neonates subsequently develop bronchopulmonary dysplasia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1998 May;78(1):5-10.
61. Hsu CD, Meaddough E, Aversa K, Hong SF, Lu LC, Jones DC, Copel JA. Elevated amniotic fluid levels of leukemia inhibitory factor, interleukin 6, and interleukin 8 in intra-amniotic infection. *Am J Obstet Gynecol.* 1998 Nov;179(5):1267-70.
62. Hsu CD, Meaddough E, Aversa K, Copel JA. The role of amniotic fluid L-selectin, GRO-alpha, and interleukin-8 in the pathogenesis of intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol.* 1998 Mar;178(3):428-32.
63. Figueroa R, Garry D, Elimian A, Patel K, Sehgal PB, Tejani N. Evaluation of amniotic fluid cytokines in preterm labor and intact membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2005 Oct;18(4):241-7.
64. Yoneda S, Shiozaki A, Ito M, Yoneda N, Inada K, Yonezawa R, Kigawa M, Saito S. Accurate Prediction of the Stage of Histological Chorioamnionitis before Delivery by Amniotic Fluid IL-8 Level. *Am J Reprod Immunol.* 2015 Jun;73(6):568-76.
65. Kovats S, Main EK, Librach C, Stubblebine M, Fisher SJ, DeMars R. A class I antigen, HLA-G, expressed in human trophoblasts. *Science.* 1990 Apr 13;248(4952):220-3.
66. McMaster MT, Librach CL, Zhou Y, Lim KH, Janatpour MJ, DeMars R, Kovats S, Damsky C, Fisher SJ. Human placental HLA-G expression is restricted to differentiated cytotrophoblasts. *J Immunol.* 1995 Apr 15;154(8):3771-8.
67. Ishitani A, Sageshima N, Lee N, Dorofeeva N, Hatake K, Marquardt H, Geraghty DE. Protein expression and peptide binding suggest unique and interacting functional roles for HLA-E, F, and G in maternal-placental immune recognition. *J Immunol.* 2003 Aug 1;171(3):1376-84.
68. Hunt JS, Petroff MG, McIntire RH, Ober C. HLA-G and immune tolerance in pregnancy. *FASEB J.* 2005 May;19(7):681-93.
69. Nancy P, Tagliani E, Tay CS, Asp P, Levy DE, Erlebacher A. Chemokine gene silencing in decidual stromal cells limits T cell access to the maternal-fetal interface. *Science.* 2012 Jun 8;336(6086):1317-21.

70. Redline RW, Patterson P. Villitis of unknown etiology is associated with major infiltration of fetal tissue by maternal inflammatory cells. *Am J Pathol.* 1993 Aug;143(2):473-9.
71. Khong TY, Bendon RW, Qureshi F, Redline RW, Gould S, Stallmach T, Lipsett J, Staples A. Chronic deciduitis in the placental basal plate: definition and interobserver reliability. *Hum Pathol.* 2000 Mar;31(3):292-5.
72. Romero R, Miranda J, Chaiworapongsa T, Chaemsaihong P, Gotsch F, Dong Z, Ahmed AI, Yoon BH, Hassan SS, Kim CJ, Korzeniewski SJ, Yeo L. 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 Apr;71(4):330-58.
73. Romero R, Miranda J, Chaiworapongsa T, Korzeniewski SJ, Chaemsaihong 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.
74. 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.
75. Romero R, Miranda J, Chaiworapongsa T, Chaemsaihong P, Gotsch F, Dong Z, Ahmed AI, Yoon BH, Hassan SS, Kim CJ, Korzeniewski SJ, Yeo L, Kim YM. Sterile intra-amniotic inflammation in asymptomatic patients with a sonographic short cervix: prevalence and clinical significance. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015 Jul;28(11):1343-1359.
76. Fortunato SJ, Menon R. Distinct molecular events suggest different pathways for preterm labor and premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2001 Jun;184(7):1399-405; discussion 1405-6.
77. Lamont RF, Rose M, Elder MG. Effect of bacterial products on prostaglandin E production by amnion cells. *Lancet.* 1985 Dec 14;2(8468):1331-3.
78. Lamont RF, Anthony F, Myatt L, Booth L, Furr PM, Taylor-Robinson D. Production of prostaglandin E2 by human amnion in vitro in response to addition of media conditioned by microorganisms associated with chorioamnionitis and preterm labor. *Am J Obstet Gynecol.* 1990 Mar;162(3):819-25.
79. Romero R, Kadar N, Hobbins JC, Duff GW. Infection and labor: the detection of endotoxin in amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol.* 1987 Oct;157(4 Pt 1):815-9.
80. Romero R, Hobbins JC, Mitchell MD. Endotoxin stimulates prostaglandin E2 production by human amnion. *Obstet Gynecol.* 1988 Feb;71(2):227-8.
81. 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.
82. McGregor JA, Lawellin D, Franco-Buff A, Todd JK, Makowski EL. Protease production by microorganisms associated with reproductive tract infection. *Am J Obstet Gynecol.* 1986 Jan;154(1):109-14.

83. McGregor JA, French JI, Lawellin D, Franco-Buff A, Smith C, Todd JK. Bacterial protease-induced reduction of chorioamniotic membrane strength and elasticity. *Obstet Gynecol.* 1987 Feb;69(2):167-74.
84. McGregor JA, Schoonmaker JN, Lunt BD, Lawellin DW. Antibiotic inhibition of bacterially induced fetal membrane weakening. *Obstet Gynecol.* 1990 Jul;76(1):124-8.
85. Dong Y, St Clair PJ, Ramzy I, Kagan-Hallet KS, Gibbs RS. A microbiologic and clinical study of placental inflammation at term. *Obstet Gynecol.* 1987 Aug;70(2):175-82.
86. Doyle RM, Harris K, Kamiza S, Harjunmaa U, Ashorn U, Nkhoma M, Dewey KG, Maleta K, Ashorn P, Klein N. Bacterial communities found in placental tissues are associated with severe chorioamnionitis and adverse birth outcomes. *PLoS One.* 2017 Jul 12;12(7):e0180167.
87. Hein M, Helmig RB, Schønheyder HC, Ganz T, Uldbjerg N. An in vitro study of antibacterial properties of the cervical mucus plug in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2001 Sep;185(3):586-92.
88. Hein M, Valore EV, Helmig RB, Uldbjerg N, Ganz T. Antimicrobial factors in the cervical mucus plug. *Am J Obstet Gynecol.* 2002 Jul;187(1):137-44.
89. Habte HH, de Beer C, Lotz ZE, Tyler MG, Schoeman L, Kahn D, Mall AS. The inhibition of the Human Immunodeficiency Virus type 1 activity by crude and purified human pregnancy plug mucus and mucins in an inhibition assay. *Virology.* 2008 May 19;5:59.
90. Becher N, Adams Waldorf K, Hein M, Uldbjerg N. The cervical mucus plug: structured review of the literature. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2009;88(5):502-13.
91. Becher N, Hein M, Danielsen CC, Uldbjerg N. Matrix metalloproteinases in the cervical mucus plug in relation to gestational age, plug compartment, and preterm labor. *Reprod Biol Endocrinol.* 2010 Sep 24;8:113.
92. Lee DC, Hassan SS, Romero R, Tarca AL, Bhatti G, Gervasi MT, Caruso JA, Stemmer PM, Kim CJ, Hansen LK, Becher N, Uldbjerg N. Protein profiling underscores immunological functions of uterine cervical mucus plug in human pregnancy. *J Proteomics.* 2011 May 16;74(6):817-28.
93. Hansen LK, Becher N, Bastholm S, Glavind J, Ramsing M, Kim CJ, Romero R, Jensen JS, Uldbjerg N. The cervical mucus plug inhibits, but does not block, the passage of ascending bacteria from the vagina during pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2014 Jan;93(1):102-8.
94. Goldenberg RL, Andrews WW, Hauth JC. Choriodecidual infection and preterm birth. *Nutr Rev.* 2002 May;60(5 Pt 2):S19-25.
95. Steel JH, Malatos S, Kennea N, Edwards AD, Miles L, Duggan P, Reynolds PR, Feldman RG, Sullivan MH. Bacteria and inflammatory cells in fetal membranes do not always cause preterm labor. *Pediatr Res.* 2005 Mar;57(3):404-11.
96. Kim MJ, Romero R, Gervasi MT, Kim JS, Yoo W, Lee DC, Mittal P, Erez O, Kusanovic JP, Hassan SS, Kim CJ. Widespread microbial invasion of the chorioamniotic membranes is a consequence and not a cause of intra-amniotic infection. *Lab Invest.* 2009 Aug;89(8):924-36.
97. Andrews WW, Hauth JC, Goldenberg RL, Gomez R, Romero R, Cassell GH. Amniotic fluid interleukin-6: correlation with upper genital tract microbial colonization and gestational age in women delivered after spontaneous labor versus indicated delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 1995 Aug;173(2):606-12.

98. Grigsby PL, Novy MJ, Adams Waldorf KM, Sadowsky DW, Gravett MG. Chorioamniotic inflammation: a harbinger of the preterm labor syndrome. *Reprod Sci.* 2010 Jan;17(1):85-94.
99. León R, Silva N, Ovalle A, Chaparro A, Ahumada A, Gajardo M, Martinez M, Gamonal J. Detection of *Porphyromonas gingivalis* in the amniotic fluid in pregnant women with a diagnosis of threatened premature labor. *J Periodontol.* 2007 Jul;78(7):1249-55.
100. Newnham JP, Shub A, Jobe AH, Bird PS, Ikegami M, Nitsos I, Moss TJ. The effects of intra-amniotic injection of periodontopathic lipopolysaccharides in sheep. *Am J Obstet Gynecol.* 2005 Aug;193(2):313-21.
101. Romero R, Mazor M. Infection and preterm labor. *Clin Obstet Gynecol.* 1988 Sep;31(3):553-84.
102. BENIRSCHKE K. Routes and types of infection in the fetus and the newborn. *AMA J Dis Child.* 1960 Jun;99:714-21.
103. Hecht JL, Onderdonk A, Delaney M, Allred EN, Kliman HJ, Zambrano E, Pflueger SM, Livasy CA, Bhan I, Leviton A; ELGAN Study Investigators. Characterization of chorioamnionitis in 2nd-trimester C-section placentas and correlation with microorganism recovery from subamniotic tissues. *Pediatr Dev Pathol.* 2008 Jan-Feb;11(1):15-22.
104. Tsekoura EA, Konstantinidou A, Papadopoulou S, Athanasiou S, Spanakis N, Kafetzis D, Antsaklis A, Tsakris A. Adenovirus genome in the placenta: association with histological chorioamnionitis and preterm birth. *J Med Virol.* 2010 Aug;82(8):1379-83.
105. Meizoso T, Rivera T, Fernández-Aceñero MJ, Mestre MJ, Garrido M, Garaulet C. Intrauterine candidiasis: report of four cases. *Arch Gynecol Obstet.* 2008 Aug;278(2):173-6.
106. Buhimschi CS, Bhandari V, Hamar BD, Bahtiyar MO, Zhao G, Sfakianaki AK, Pettker CM, Magloire L, Funai E, Norwitz ER, Paidas M, Copel JA, Weiner CP, Lockwood CJ, Buhimschi IA. Proteomic profiling of the amniotic fluid to detect inflammation, infection, and neonatal sepsis. *PLoS Med.* 2007 Jan;4(1):e18.
107. Abdel-Razeq SS, Buhimschi IA, Bahtiyar MO, Rosenberg VA, Dulay AT, Han CS, Werner EF, Thung S, Buhimschi CS. Interpretation of amniotic fluid white blood cell count in "bloody tap" amniocenteses in women with symptoms of preterm labor. *Obstet Gynecol.* 2010 Aug;116(2 Pt 1):344-354.
108. Sharp GC, Stock SJ, Norman JE. Fetal assessment methods for improving neonatal and maternal outcomes in preterm prelabour rupture of membranes. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014 Oct 3;(10):CD010209.
109. Martinelli P, Sarno L, Maruotti GM, Paludetto R. Chorioamnionitis and prematurity: a critical review. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012 Oct;25 Suppl 4:29-31.
110. Curtin WM, Katzman PJ, Florescue H, Metlay LA. Accuracy of signs of clinical chorioamnionitis in the term parturient. *J Perinatol.* 2013 Jun;33(6):422-8.
111. Smulian JC, Shen-Schwarz S, Vintzileos AM, Lake MF, Ananth CV. Clinical chorioamnionitis and histologic placental inflammation. *Obstet Gynecol.* 1999 Dec;94(6):1000-5.
112. Arayici S, Kadioglu Simsek G, Oncel MY, Eras Z, Canpolat FE, Oguz SS, Uras N, Zergeroglu S, Dilmen U. The effect of histological chorioamnionitis on the short-term outcome

of preterm infants ≤ 32 weeks: a single-center study. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2014 Jul;27(11):1129-33.

113. Burke C, Chin EG. Chorioamnionitis at Term: Definition, Diagnosis, and Implications for Practice. *J Perinat Neonatal Nurs.* 2016 Apr-Jun;30(2):106-14.

114. Evers AC, Nijhuis L, Koster MP, Bont LJ, Visser GH. Intrapartum fever at term: diagnostic markers to individualize the risk of fetal infection: a review. *Obstet Gynecol Surv.* 2012 Mar;67(3):187-200.

115. Segal S. Labor epidural analgesia and maternal fever. *Anesth Analg.* 2010 Dec;111(6):1467-75.

116. Hoang D, Charlagorla P, Salafia C, VanHorn S, Dygulska B, Narula P, Gad A. Histologic chorioamnionitis as a consideration in the management of newborns of febrile mothers. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2013 May;26(8):828-32.

117. Romero R, Chaemsathong P, Korzeniewski SJ, Kusanovic JP, Docheva N, Martinez-Varea A, Ahmed AI, Yoon BH, Hassan SS, Chaiworapongsa T, Yeo L. Clinical chorioamnionitis at term III: how well do clinical criteria perform in the identification of proven intra-amniotic infection? *J Perinat Med.* 2016 Jan;44(1):23-32.

118. Duff P. Perinatal infection. In: Troiano N, Harvey CJ, Chez BF, eds. *Association of Women's Health, Obstetric and Neonatal Nurses: High Risk & Critical Care Obstetrics.* 3rd ed. Philadelphia, PA: J.B. Lippincott, Williams & Wilkins; 2013:326.

119. Lyndon A, Usher Ali L. *Fetal Heart Monitoring: Principles and Practices.* 5th ed. Washington, DC: Kendall Hunt Professional; 2015.

120. Galinsky R, Polglase GR, Hooper SB, Black MJ, Moss TJ. The consequences of chorioamnionitis: preterm birth and effects on development. *J Pregnancy.* 2013;2013:412831.

121. Crane JM, Armson BA, Dodds L, Feinberg RF, Kennedy W, Kirkland SA. Risk scoring, fetal fibronectin, and bacterial vaginosis to predict preterm delivery. *Obstet Gynecol.* 1999 Apr;93(4):517-22.

122. Khan KS, Khan SF, Nwosu CR, Arnott N, Chien PF. Misleading authors' inferences in obstetric diagnostic test literature. *Am J Obstet Gynecol.* 1999 Jul;181(1):112-5.

123. Leitich H, Egarter C, Kaider A, Hohlagschwandtner M, Berghammer P, Husslein P. Cervicovaginal fetal fibronectin as a marker for preterm delivery: a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 1999 May;180(5):1169-76.

124. Lockwood CJ, Senyei AE, Dische MR, Casal D, Shah KD, Thung SN, Jones L, Deligdisch L, Garite TJ. Fetal fibronectin in cervical and vaginal secretions as a predictor of preterm delivery. *N Engl J Med.* 1991 Sep 5;325(10):669-74.

125. Heine RP, McGregor JA, Dullien VK. Accuracy of salivary estriol testing compared to traditional risk factor assessment in predicting preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 1999 Jan;180(1 Pt 3):S214-8.

126. McGregor JA, Jackson GM, Lachelin GC, Goodwin TM, Artal R, Hastings C, Dullien V. Salivary estriol as risk assessment for preterm labor: a prospective trial. *Am J Obstet Gynecol.* 1995 Oct;173(4):1337-42.

127. Kono H, Rock KL. How dying cells alert the immune system to danger. *Nat Rev Immunol.* 2008 Apr;8(4):279-89.

128. Loppnow H. Zytokine: Klassifikation, Rezeptoren, Wirkungsmechanismen [Cytokines: classification, receptors, mechanisms of action]. *Internist (Berl)*. 2001 Jan;42(1):13-4, 17-27. German.
129. Balkwill FR, Burke F. The cytokine network. *Immunol Today*. 1989 Sep;10(9):299-304.
130. Cohen S, Bigazzi PE, Yoshida T. Commentary. Similarities of T cell function in cell-mediated immunity and antibody production. *Cell Immunol*. 1974 Apr;12(1):150-9.
131. Rietschel ET, Brade H, Holst O, Brade L, Müller-Loennies S, Mamat U, Zähringer U, Beckmann F, Seydel U, Brandenburg K, Ulmer AJ, Mattern T, Heine H, Schletter J, Loppnow H, Schönbeck U, Flad HD, Hauschildt S, Schade UF, Di Padova F, Kusumoto S, Schumann RR. Bacterial endotoxin: Chemical constitution, biological recognition, host response, and immunological detoxification. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1996;216:39-81.
132. Wagner H. Bacterial CpG DNA activates immune cells to signal infectious danger. *Adv Immunol*. 1999;73:329-68.
133. Loppnow H, Libby P. Proliferating or interleukin 1-activated human vascular smooth muscle cells secrete copious interleukin 6. *J Clin Invest*. 1990 Mar;85(3):731-8.
134. Loppnow H, Bil R, Hirt S, Schönbeck U, Herzberg M, Werdan K, Rietschel ET, Brandt E, Flad HD. Platelet-derived interleukin-1 induces cytokine production, but not proliferation of human vascular smooth muscle cells. *Blood*. 1998 Jan 1;91(1):134-41.
135. Nicola NA, Metcalf D, Matsumoto M, Johnson GR. Purification of a factor inducing differentiation in murine myelomonocytic leukemia cells. Identification as granulocyte colony-stimulating factor. *J Biol Chem*. 1983 Jul 25;258(14):9017-23.
136. Topping V, Romero R, Than NG, Tarca AL, Xu Z, Kim SY, Wang B, Yeo L, Kim CJ, Hassan SS, Kim JS. Interleukin-33 in the human placenta. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2013 Mar;26(4):327-38.
137. Fidel PL Jr, Romero R, Ramirez M, Cutright J, Edwin SS, LaMarche S, Cotton DB, Mitchell MD. Interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra) production by human amnion, chorion, and decidua. *Am J Reprod Immunol*. 1994 Aug;32(1):1-7.
138. Molofsky AB, Savage AK, Locksley RM. Interleukin-33 in Tissue Homeostasis, Injury, and Inflammation. *Immunity*. 2015 Jun 16;42(6):1005-19.
139. Schmitt P, Girard JP, Cayrol C. L'interleukine 33 - De la biologie aux implications thérapeutiques [Interleukin-33: from biology to potential treatments]. *Med Sci (Paris)*. 2019 May;35(5):440-451. French.
140. Baekkevold ES, Roussigné M, Yamanaka T, Johansen FE, Jahnsen FL, Amalric F, Brandtzaeg P, Erard M, Haraldsen G, Girard JP. Molecular characterization of NF-HEV, a nuclear factor preferentially expressed in human high endothelial venules. *Am J Pathol*. 2003 Jul;163(1):69-79.
141. Cayrol C, Girard JP. Interleukin-33 (IL-33): A nuclear cytokine from the IL-1 family. *Immunol Rev*. 2018 Jan;281(1):154-168.
142. Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, Zurawski G, Moshrefi M, Qin J, Li X, Gorman DM, Bazan JF, Kastelein RA. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity*. 2005 Nov;23(5):479-90.

143. Lingel A, Weiss TM, Niebuhr M, Pan B, Appleton BA, Wiesmann C, Bazan JF, Fairbrother WJ. Structure of IL-33 and its interaction with the ST2 and IL-1RAcP receptors--insight into heterotrimeric IL-1 signaling complexes. *Structure*. 2009 Oct 14;17(10):1398-410.
144. Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev*. 2018 Jan;281(1):8-27.
145. Carriere V, Roussel L, Ortega N, Lacorre DA, Americh L, Aguilar L, Bouche G, Girard JP. IL-33, the IL-1-like cytokine ligand for ST2 receptor, is a chromatin-associated nuclear factor in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Jan 2;104(1):282-7.
146. Lefrançois E, Roga S, Gautier V, Gonzalez-de-Peredo A, Monsarrat B, Girard JP, Cayrol C. IL-33 is processed into mature bioactive forms by neutrophil elastase and cathepsin G. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 Jan 31;109(5):1673-8.
147. Lefrançois E, Duval A, Mirey E, Roga S, Espinosa E, Cayrol C, Girard JP. Central domain of IL-33 is cleaved by mast cell proteases for potent activation of group-2 innate lymphoid cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 Oct 28;111(43):15502-7.
148. Cayrol C, Duval A, Schmitt P, Roga S, Camus M, Stella A, Burlet-Schiltz O, Gonzalez-de-Peredo A, Girard JP. Environmental allergens induce allergic inflammation through proteolytic maturation of IL-33. *Nat Immunol*. 2018 Apr;19(4):375-385.
149. Martin NT, Martin MU. Interleukin 33 is a guardian of barriers and a local alarmin. *Nat Immunol*. 2016 Feb;17(2):122-31.
150. Garlanda C, Dinarello CA, Mantovani A. The interleukin-1 family: back to the future. *Immunity*. 2013 Dec 12;39(6):1003-18.
151. Boraschi D, Tagliabue A. The interleukin-1 receptor family. *Semin Immunol*. 2013 Dec 15;25(6):394-407.
152. Afonina IS, Müller C, Martin SJ, Beyaert R. Proteolytic Processing of Interleukin-1 Family Cytokines: Variations on a Common Theme. *Immunity*. 2015 Jun 16;42(6):991-1004.
153. Liew FY, Girard JP, Turnquist HR. Interleukin-33 in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2016 Nov;16(11):676-689.
154. Roussel L, Erard M, Cayrol C, Girard JP. Molecular mimicry between IL-33 and KSHV for attachment to chromatin through the H2A-H2B acidic pocket. *EMBO Rep*. 2008 Oct;9(10):1006-12.
155. Kalashnikova AA, Porter-Goff ME, Muthurajan UM, Luger K, Hansen JC. The role of the nucleosome acidic patch in modulating higher order chromatin structure. *J R Soc Interface*. 2013 Feb 27;10(82):20121022.
156. Rider P, Carmi Y, Voronov E, Apte RN. Interleukin-1 α . *Semin Immunol*. 2013 Dec 15;25(6):430-8.
157. Gadani SP, Walsh JT, Smirnov I, Zheng J, Kipnis J. The glia-derived alarmin IL-33 orchestrates the immune response and promotes recovery following CNS injury. *Neuron*. 2015 Feb 18;85(4):703-9.
158. Moussion C, Ortega N, Girard JP. The IL-1-like cytokine IL-33 is constitutively expressed in the nucleus of endothelial cells and epithelial cells in vivo: a novel 'alarmin'? *PLoS One*. 2008 Oct 6;3(10):e3331.

159. Pichery M, Mirey E, Mercier P, Lefrancais E, Dujardin A, Ortega N, Girard JP. Endogenous IL-33 is highly expressed in mouse epithelial barrier tissues, lymphoid organs, brain, embryos, and inflamed tissues: in situ analysis using a novel IL-33-LacZ gene trap reporter strain. *J Immunol*. 2012 Apr 1;188(7):3488-95.
160. Drake LY, Kita H. IL-33: biological properties, functions, and roles in airway disease. *Immunol Rev*. 2017 Jul;278(1):173-184.
161. Kakkar R, Hei H, Dobner S, Lee RT. Interleukin 33 as a mechanically responsive cytokine secreted by living cells. *J Biol Chem*. 2012 Feb 24;287(9):6941-8.
162. Gautier V, Cayrol C, Farache D, Roga S, Monsarrat B, Burlet-Schiltz O, Gonzalez de Peredo A, Girard JP. Extracellular IL-33 cytokine, but not endogenous nuclear IL-33, regulates protein expression in endothelial cells. *Sci Rep*. 2016 Oct 3;6:34255.
163. Hong J, Bae S, Jhun H, Lee S, Choi J, Kang T, Kwak A, Hong K, Kim E, Jo S, Kim S. Identification of constitutively active interleukin 33 (IL-33) splice variant. *J Biol Chem*. 2011 Jun 3;286(22):20078-86.
164. Cayrol C, Girard JP. The IL-1-like cytokine IL-33 is inactivated after maturation by caspase-1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Jun 2;106(22):9021-6.
165. Lüthi AU, Cullen SP, McNeela EA, Duriez PJ, Afonina IS, Sheridan C, Brumatti G, Taylor RC, Kersse K, Vandenabeele P, Lavelle EC, Martin SJ. Suppression of interleukin-33 bioactivity through proteolysis by apoptotic caspases. *Immunity*. 2009 Jul 17;31(1):84-98.
166. Ali S, Nguyen DQ, Falk W, Martin MU. Caspase 3 inactivates biologically active full length interleukin-33 as a classical cytokine but does not prohibit nuclear translocation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010 Jan 15;391(3):1512-6.
167. Milovanovic M, Volarevic V, Radosavljevic G, Jovanovic I, Pejnovic N, Arsenijevic N, Lukic ML. IL-33/ST2 axis in inflammation and immunopathology. *Immunol Res*. 2012 Apr;52(1-2):89-99.
168. Tominaga S, Jenkins NA, Gilbert DJ, Copeland NG, Tetsuka T. Molecular cloning of the murine ST2 gene. Characterization and chromosomal mapping. *Biochim Biophys Acta*. 1991 Aug 27;1090(1):1-8.
169. Stampalija T, Chaiworapongsa T, Romero R, Tarca AL, Bhatti G, Chiang PJ, Than NG, Ferrazzi E, Hassan SS, Yeo L. Soluble ST2, a modulator of the inflammatory response, in preterm and term labor. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2014 Jan;27(2):111-21.
170. Dale M, Nicklin MJ. Interleukin-1 receptor cluster: gene organization of IL1R2, IL1R1, IL1RL2 (IL-1Rrp2), IL1RL1 (T1/ST2), and IL18R1 (IL-1Rrp) on human chromosome 2q. *Genomics*. 1999 Apr 1;57(1):177-9.
171. Tominaga S, Inazawa J, Tsuji S. Assignment of the human ST2 gene to chromosome 2 at q11.2. *Hum Genet*. 1996 May;97(5):561-3.
172. Bergers G, Reikerstorfer A, Braselmann S, Graninger P, Busslinger M. Alternative promoter usage of the Fos-responsive gene Fit-1 generates mRNA isoforms coding for either secreted or membrane-bound proteins related to the IL-1 receptor. *EMBO J*. 1994 Mar 1;13(5):1176-88.
173. Crinier A, Viant C, Girard-Madoux M, Vivier É. Les cellules lymphoïdes innées [Innate lymphoid cells]. *Med Sci (Paris)*. 2017 May;33(5):534-542.

174. Xu D, Chan WL, Leung BP, Huang Fp, Wheeler R, Piedrafita D, Robinson JH, Liew FY. Selective expression of a stable cell surface molecule on type 2 but not type 1 helper T cells. *J Exp Med*. 1998 Mar 2;187(5):787-94.
175. Baumann C, Bonilla WV, Fröhlich A, Helmstetter C, Peine M, Hegazy AN, Pinschewer DD, Löhning M. T-bet- and STAT4-dependent IL-33 receptor expression directly promotes antiviral Th1 cell responses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Mar 31;112(13):4056-61.
176. Shimpo M, Morrow DA, Weinberg EO, Sabatine MS, Murphy SA, Antman EM, Lee RT. Serum levels of the interleukin-1 receptor family member ST2 predict mortality and clinical outcome in acute myocardial infarction. *Circulation*. 2004 May 11;109(18):2186-90.
177. Pascual-Figal DA, Januzzi JL. The biology of ST2: the International ST2 Consensus Panel. *Am J Cardiol*. 2015 Apr 2;115(7 Suppl):3B-7B.
178. Mueller T, Jaffe AS. Soluble ST2--analytical considerations. *Am J Cardiol*. 2015 Apr 2;115(7 Suppl):8B-21B.
179. Moulin D, Donzé O, Talabot-Ayer D, Mézin F, Palmer G, Gabay C. Interleukin (IL)-33 induces the release of pro-inflammatory mediators by mast cells. *Cytokine*. 2007 Dec;40(3):216-25.
180. Komai-Koma M, Gilchrist DS, McKenzie AN, Goodyear CS, Xu D, Liew FY. IL-33 activates B1 cells and exacerbates contact sensitivity. *J Immunol*. 2011 Feb 15;186(4):2584-91.
181. Ahmed A, Koma MK. Interleukin-33 Triggers B1 Cell Expansion and Its Release of Monocyte/Macrophage Chemoattractants and Growth Factors. *Scand J Immunol*. 2015 Aug;82(2):118-24.
182. Sattler S, Ling GS, Xu D, Hussaarts L, Romaine A, Zhao H, Fossati-Jimack L, Malik T, Cook HT, Botto M, Lau YL, Smits HH, Liew FY, Huang FP. IL-10-producing regulatory B cells induced by IL-33 (Breg(IL-33)) effectively attenuate mucosal inflammatory responses in the gut. *J Autoimmun*. 2014 May;50(100):107-22.
183. de Oliveira MFA, Talvani A, Rocha-Vieira E. IL-33 in obesity: where do we go from here? *Inflamm Res*. 2019 Mar;68(3):185-194.
184. Bonilla WV, Fröhlich A, Senn K, Kallert S, Fernandez M, Johnson S, Kreutzfeldt M, Hegazy AN, Schrick C, Fallon PG, Klemenz R, Nakae S, Adler H, Merkler D, Löhning M, Pinschewer DD. The alarmin interleukin-33 drives protective antiviral CD8⁺ T cell responses. *Science*. 2012 Feb 24;335(6071):984-9.
185. Sesti-Costa R, Silva GK, Proença-Módena JL, Carlos D, Silva ML, Alves-Filho JC, Arruda E, Liew FY, Silva JS. The IL-33/ST2 pathway controls coxsackievirus B5-induced experimental pancreatitis. *J Immunol*. 2013 Jul 1;191(1):283-92.
186. Alves-Filho JC, Sônego F, Souto FO, Freitas A, Verri WA Jr, Auxiliadora-Martins M, Basile-Filho A, McKenzie AN, Xu D, Cunha FQ, Liew FY. Interleukin-33 attenuates sepsis by enhancing neutrophil influx to the site of infection. *Nat Med*. 2010 Jun;16(6):708-12.
187. Le HT, Tran VG, Kim W, Kim J, Cho HR, Kwon B. IL-33 priming regulates multiple steps of the neutrophil-mediated anti-Candida albicans response by modulating TLR and dectin-1 signals. *J Immunol*. 2012 Jul 1;189(1):287-95.

188. Lan F, Yuan B, Liu T, Luo X, Huang P, Liu Y, Dai L, Yin H. Interleukin-33 facilitates neutrophil recruitment and bacterial clearance in *S. aureus*-caused peritonitis. *Mol Immunol*. 2016 Apr;72:74-80.
189. Yang Q, Li G, Zhu Y, Liu L, Chen E, Turnquist H, Zhang X, Finn OJ, Chen X, Lu B. IL-33 synergizes with TCR and IL-12 signaling to promote the effector function of CD8⁺ T cells. *Eur J Immunol*. 2011 Nov;41(11):3351-60.
190. Zhao J, Zhang H, Liu SB, Han P, Hu S, Li Q, Wang ZF, Mao-Ying QL, Chen HM, Jiang JW, Wu GC, Mi WL, Wang YQ. Spinal interleukin-33 and its receptor ST2 contribute to bone cancer-induced pain in mice. *Neuroscience*. 2013 Dec 3;253:172-82.
191. Miller AM, Xu D, Asquith DL, Denby L, Li Y, Sattar N, Baker AH, McInnes IB, Liew FY. IL-33 reduces the development of atherosclerosis. *J Exp Med*. 2008 Feb 18;205(2):339-46.
192. Fock V, Mairhofer M, Otti GR, Hiden U, Spittler A, Zeisler H, Fiala C, Knöfler M, Pollheimer J. Macrophage-derived IL-33 is a critical factor for placental growth. *J Immunol*. 2013 Oct 1;191(7):3734-43.
193. 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 Sep;12(9):1065-74.
194. Salamonsen LA, Hannan NJ, Dimitriadis E. Cytokines and chemokines during human embryo implantation: roles in implantation and early placentation. *Semin Reprod Med*. 2007 Nov;25(6):437-44.
195. Ingman K, Cookson VJ, Jones CJ, Aplin JD. Characterisation of Hofbauer cells in first and second trimester placenta: incidence, phenotype, survival in vitro and motility. *Placenta*. 2010 Jun;31(6):535-44.
196. Mor G, Abrahams VM. Potential role of macrophages as immunoregulators of pregnancy. *Reprod Biol Endocrinol*. 2003 Dec 2;1:119.
197. Salker MS, Nautiyal J, Steel JH, Webster Z, Sućurović S, Nicou M, Singh Y, Lucas ES, Murakami K, Chan YW, James S, Abdallah Y, Christian M, Croy BA, Mulac-Jericevic B, Quenby S, Brosens JJ. Disordered IL-33/ST2 activation in decidualizing stromal cells prolongs uterine receptivity in women with recurrent pregnancy loss. *PLoS One*. 2012;7(12):e52252.
198. Lessin DL, Hunt JS, King CR, Wood GW. Antigen expression by cells near the maternal-fetal interface. *Am J Reprod Immunol Microbiol*. 1988 Jan;16(1):1-7.
199. Moffett-King A. Natural killer cells and pregnancy. *Nat Rev Immunol*. 2002 Sep;2(9):656-63.
200. Granne I, Southcombe JH, Snider JV, Tannetta DS, Child T, Redman CW, Sargent IL. ST2 and IL-33 in pregnancy and pre-eclampsia. *PLoS One*. 2011;6(9):e24463.
201. Kuchler AM, Pollheimer J, Balogh J, Sponheim J, Manley L, Sorensen DR, De Angelis PM, Scott H, Haraldsen G. Nuclear interleukin-33 is generally expressed in resting endothelium but rapidly lost upon angiogenic or proinflammatory activation. *Am J Pathol*. 2008 Oct;173(4):1229-42.
202. Mor G, Koga K. Macrophages and pregnancy. *Reprod Sci*. 2008 May;15(5):435-6.

203. Hunt JS, Petroff MG, Burnett TG. Uterine leukocytes: key players in pregnancy. *Semin Cell Dev Biol.* 2000 Apr;11(2):127-37.
204. Enoksson, M. et al. Intraperitoneal influx of neutrophils in response to IL-33 is mast cell-dependent. *Blood* 121, 530–536 (2013).
205. Cekmez Y, Cekmez F, Ozkaya E, Pirgon O, Yılmaz Z, Yılmaz EA, Kaya G, Süer N, Küçüközkan T. uPAR, IL-33, and ST2 values as a predictor of subclinical chorioamnionitis in preterm premature rupture of membranes. *J Interferon Cytokine Res.* 2013 Dec;33(12):778-82.
206. Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science.* 2005 Jun 10;308(5728):1592-4.
207. Kakkar R, Lee RT. The IL-33/ST2 pathway: therapeutic target and novel biomarker. *Nat Rev Drug Discov.* 2008 Oct;7(10):827-40.
208. Kumar S, Tzimas MN, Griswold DE, Young PR. Expression of ST2, an interleukin-1 receptor homologue, is induced by proinflammatory stimuli. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997 Jun 27;235(3):474-8.
209. Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rodgers GM, Hubel CA, McLaughlin MK. Preeclampsia: an endothelial cell disorder. *Am J Obstet Gynecol.* 1989 Nov;161(5):1200-4.
210. Foidart JM, Schaaps JP, Chantraine F, Munaut C, Lorquet S. Dysregulation of anti-angiogenic agents (sFlt-1, PLGF, and sEndoglin) in preeclampsia--a step forward but not the definitive answer. *J Reprod Immunol.* 2009 Nov;82(2):106-11.
211. Huang B, Faucette AN, Pawlitz MD, Pei B, Goyert JW, Zhou JZ, El-Hage NG, Deng J, Lin J, Yao F, Dewar RS 3rd, Jassal JS, Sandberg ML, Dai J, Cols M, Shen C, Polin LA, Nichols RA, Jones TB, Bluth MH, Puder KS, Gonik B, Nayak NR, Puscheck E, Wei WZ, Cerutti A, Colonna M, Chen K. Interleukin-33-induced expression of PIBF1 by decidual B cells protects against preterm labor. *Nat Med.* 2017 Jan;23(1):128-135.
212. Moffett A, Shreeve N. First do no harm: uterine natural killer (NK) cells in assisted reproduction. *Hum Reprod.* 2015 Jul;30(7):1519-25.
213. Muzzio DO, Soldati R, Ehrhardt J, Utpatel K, Evert M, Zenclussen AC, Zygmunt M, Jensen F. B cell development undergoes profound modifications and adaptations during pregnancy in mice. *Biol Reprod.* 2014 Nov;91(5):115.
214. 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.
215. 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.
216. Valeff N, Juriol L, Quadrana F, Muzzio DO, Zygmunt M, Quiroga MF, Ventimiglia MS, Jensen F. Expression of IL-33 Receptor Is Significantly Up-Regulated in B Cells During Pregnancy and in the Acute Phase of Preterm Birth in Mice. *Front Immunol.* 2020 Mar 27;11:446.
217. Jensen F, Wallukat G, Herse F, Budner O, El-Mousleh T, Costa SD, Dechend R, Zenclussen AC. CD19+CD5+ cells as indicators of preeclampsia. *Hypertension.* 2012 Apr;59(4):861-8.

218. Löhning M, Stroehmann A, Coyle AJ, Grogan JL, Lin S, Gutierrez-Ramos JC, Levinson D, Radbruch A, Kamradt T. T1/ST2 is preferentially expressed on murine Th2 cells, independent of interleukin 4, interleukin 5, and interleukin 10, and important for Th2 effector function. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Jun 9;95(12):6930-5.
219. Townsend MJ, Fallon PG, Matthews DJ, Jolin HE, McKenzie AN. T1/ST2-deficient mice demonstrate the importance of T1/ST2 in developing primary T helper cell type 2 responses. *J Exp Med*. 2000 Mar 20;191(6):1069-76.
220. Mitchell MD, Simpson KL, Keelan JA. Paradoxical proinflammatory actions of interleukin-10 in human amnion: potential roles in term and preterm labour. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Aug;89(8):4149-52.
221. Seong HS, Lee SE, Kang JH, Romero R, Yoon BH. The frequency of microbial invasion of the amniotic cavity and histologic chorioamnionitis in women at term with intact membranes in the presence or absence of labor. *Am J Obstet Gynecol*. 2008 Oct;199(4):375.e1-5.
222. Zeyda M, Wernly B, Demyanets S, Kaun C, Hämmerle M, Hantusch B, Schranz M, Neuhofer A, Itariu BK, Keck M, Prager G, Wojta J, Stulnig TM. Severe obesity increases adipose tissue expression of interleukin-33 and its receptor ST2, both predominantly detectable in endothelial cells of human adipose tissue. *Int J Obes (Lond)*. 2013 May;37(5):658-65.
223. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest*. 2007 Jan;117(1):175-84.
224. Han JM, Wu D, Denroche HC, Yao Y, Verchere CB, Levings MK. IL-33 Reverses an Obesity-Induced Deficit in Visceral Adipose Tissue ST2+ T Regulatory Cells and Ameliorates Adipose Tissue Inflammation and Insulin Resistance. *J Immunol*. 2015 May 15;194(10):4777-83.
225. Stienstra R, Joosten LA, Koenen T, van Tits B, van Diepen JA, van den Berg SA, Rensen PC, Voshol PJ, Fantuzzi G, Hijmans A, Kersten S, Müller M, van den Berg WB, van Rooijen N, Wabitsch M, Kullberg BJ, van der Meer JW, Kanneganti T, Tack CJ, Netea MG. The inflammasome-mediated caspase-1 activation controls adipocyte differentiation and insulin sensitivity. *Cell Metab*. 2010 Dec 1;12(6):593-605.
226. Miller AM, Asquith DL, Hueber AJ, Anderson LA, Holmes WM, McKenzie AN, Xu D, Sattar N, McInnes IB, Liew FY. Interleukin-33 induces protective effects in adipose tissue inflammation during obesity in mice. *Circ Res*. 2010 Sep 3;107(5):650-8.
227. Brestoff JR, Kim BS, Saenz SA, Stine RR, Monticelli LA, Sonnenberg GF, Thome JJ, Farber DL, Lutfy K, Seale P, Artis D. Group 2 innate lymphoid cells promote beiging of white adipose tissue and limit obesity. *Nature*. 2015 Mar 12;519(7542):242-6.
228. Alkhoury N, Gornicka A, Berk MP, Thapaliya S, Dixon LJ, Kashyap S, Schauer PR, Feldstein AE. Adipocyte apoptosis, a link between obesity, insulin resistance, and hepatic steatosis. *J Biol Chem*. 2010 Jan 29;285(5):3428-38.
229. Talukdar S, Oh DY, Bandyopadhyay G, Li D, Xu J, McNelis J, Lu M, Li P, Yan Q, Zhu Y, Ofrecio J, Lin M, Brenner MB, Olefsky JM. Neutrophils mediate insulin resistance in mice fed a high-fat diet through secreted elastase. *Nat Med*. 2012 Sep;18(9):1407-12.
230. Gery I, Gershon RK, Waksman BH. Potentiation of cultured mouse thymocyte responses by factors released by peripheral leucocytes. *J Immunol*. 1971 Dec;107(6):1778-80.

231. Revised nomenclature for antigen-nonspecific T cell proliferation and helper factors. *J Immunol.* 1979 Dec;123(6):2928-9.
232. Wesche H, Korherr C, Kracht M, Falk W, Resch K, Martin MU. The interleukin-1 receptor accessory protein (IL-1RAcP) is essential for IL-1-induced activation of interleukin-1 receptor-associated kinase (IRAK) and stress-activated protein kinases (SAP kinases). *J Biol Chem.* 1997 Mar 21;272(12):7727-31.
233. Torigoe K, Ushio S, Okura T, Kobayashi S, Taniai M, Kunikata T, Murakami T, Sanou O, Kojima H, Fujii M, Ohta T, Ikeda M, Ikegami H, Kurimoto M. Purification and characterization of the human interleukin-18 receptor. *J Biol Chem.* 1997 Oct 10;272(41):25737-42.
234. Martin MU, Falk W. The interleukin-1 receptor complex and interleukin-1 signal transduction. *Eur Cytokine Netw.* 1997 Mar;8(1):5-17.
235. Dinarello CA. The biological properties of interleukin-1. *Eur Cytokine Netw.* 1994 Nov-Dec;5(6):517-31.
236. Loppnow H, Werdan K, Reuter G, Flad HD. The interleukin-1 and interleukin-1 converting enzyme families in the cardiovascular system. *Eur Cytokine Netw.* 1998 Dec;9(4):675-80.
237. Tasic S. M. The clinical significance of intra-amniotic inflammation in preterm births. Doctoral thesis. University in Nis, Faculty of medicine. Nis, 2014.
238. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest.* 2000 Aug;118(2):503-8.
239. Plata-Salamán CR, Peloso E, Satinoff E. Cytokine-induced fever in obese (fa/fa) and lean (Fa/Fa) Zucker rats. *Am J Physiol.* 1998 Oct;275(4):R1353-7.
240. Kohno K, Kurimoto M. Interleukin 18, a cytokine which resembles IL-1 structurally and IL-12 functionally but exerts its effect independently of both. *Clin Immunol Immunopathol.* 1998 Jan;86(1):11-5.
241. Dinarello CA. The role of the interleukin-1-receptor antagonist in blocking inflammation mediated by interleukin-1. *N Engl J Med.* 2000 Sep 7;343(10):732-4.
242. Sunder S, Lenton EA. Endocrinology of the peri-implantation period. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2000 Oct;14(5):789-800.
243. Rivers-Auty J, Daniels MJD, Colliver I, Robertson DL, Brough D. Redefining the ancestral origins of the interleukin-1 superfamily. *Nat Commun.* 2018 Mar 20;9(1):1156.
244. Cohen I, Rider P, Carmi Y, Braiman A, Dotan S, White MR, Voronov E, Martin MU, Dinarello CA, Apte RN. Differential release of chromatin-bound IL-1 α discriminates between necrotic and apoptotic cell death by the ability to induce sterile inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Feb 9;107(6):2574-9.
245. Rider P, Carmi Y, Guttman O, Braiman A, Cohen I, Voronov E, White MR, Dinarello CA, Apte RN. IL-1 α and IL-1 β recruit different myeloid cells and promote different stages of sterile inflammation. *J Immunol.* 2011 Nov 1;187(9):4835-43.
246. Sahoo M, Ceballos-Olvera I, del Barrio L, Re F. Role of the inflammasome, IL-1 β , and IL-18 in bacterial infections. *ScientificWorldJournal.* 2011;11:2037-50.

247. Gérard N, Caillaud M, Martoriati A, Goudet G, Lalmanach AC. The interleukin-1 system and female reproduction. *J Endocrinol.* 2004 Feb;180(2):203-12.
248. Psychoyos A, Nikas G, Gravanis A. The role of prostaglandins in blastocyst implantation. *Hum Reprod.* 1995 Dec;10 Suppl 2:30-42.
249. Saji F, Samejima Y, Kamiura S, Sawai K, Shimoya K, Kimura T. Cytokine production in chorioamnionitis. *J Reprod Immunol.* 2000 Jul;47(2):185-96.
250. Kauma S, Matt D, Strom S, Eierman D, Turner T. Interleukin-1 beta, human leukocyte antigen HLA-DR alpha, and transforming growth factor-beta expression in endometrium, placenta, and placental membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1990 Nov;163(5 Pt 1):1430-7.
251. Romero R, Brody DT, Oyarzun E, Mazor M, Wu YK, Hobbins JC, Durum SK. Infection and labor. III. Interleukin-1: a signal for the onset of parturition. *Am J Obstet Gynecol.* 1989 May;160(5 Pt 1):1117-23.
252. Glumoff V, Väyrynen O, Kangas T, Hallman M. Degree of lung maturity determines the direction of the interleukin-1- induced effect on the expression of surfactant proteins. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2000 Mar;22(3):280-8.
253. Romero R, Wu YK, Brody DT, Oyarzun E, Duff GW, Durum SK. Human decidua: a source of interleukin-1. *Obstet Gynecol.* 1989 Jan;73(1):31-4.
254. Romero R, Durum S, Dinarello CA, Oyarzun E, Hobbins JC, Mitchell MD. Interleukin-1 stimulates prostaglandin biosynthesis by human amnion. *Prostaglandins.* 1989 Jan;37(1):13-22.
255. Mitchell MD, Edwin S, Romero RJ. Prostaglandin biosynthesis by human decidual cells: effects of inflammatory mediators. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 1990 Sep;41(1):35-8.
256. Nadeau-Vallée M, Obari D, Quiniou C, Lubell WD, Olson DM, Girard S, Chemtob S. A critical role of interleukin-1 in preterm labor. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2016 Apr;28:37-51.
257. Brown NL, Alvi SA, Elder MG, Bennett PR, Sullivan MH. Regulation of prostaglandin production in intact fetal membranes by interleukin-1 and its receptor antagonist. *J Endocrinol.* 1998 Dec;159(3):519-26.
258. Spaziani EP, Tsibris JC, Hunt LT, Benoit RR, O'Brien WF. The effect of interleukin-1 beta and interleukin-4 on the expression of prostaglandin receptors EP1 and EP3 in amnion WISH cells. *Am J Reprod Immunol.* 1997 Oct;38(4):279-85.
259. Ammälä M, Nyman T, Salmi A, Rutanen EM. The interleukin-1 system in gestational tissues at term: effect of labour. *Placenta.* 1997 Nov;18(8):717-23.
260. Romero R, Parvizi ST, Oyarzun E, Mazor M, Wu YK, Avila C, Athanassiadis AP, Mitchell MD. Amniotic fluid interleukin-1 in spontaneous labor at term. *J Reprod Med.* 1990 Mar;35(3):235-8.
261. Tanaka Y, Narahara H, Takai N, Yoshimatsu J, Anai T, Miyakawa I. Interleukin-1beta and interleukin-8 in cervicovaginal fluid during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1998 Sep;179(3 Pt 1):644-9.
262. Romero R, Mazor M, Brandt F, Sepulveda W, Avila C, Cotton DB, Dinarello CA. Interleukin-1 alpha and interleukin-1 beta in preterm and term human parturition. *Am J Reprod Immunol.* 1992 Apr-May;27(3-4):117-23.

263. Y.J. Heng, S. Liong, M. Permezel, G.E. Rice, M.K. Di Quinzio, H.M. Georgiou, The interplay of the interleukin 1 system in pregnancy and labor, *Reprod. Sci.* 21 (2014) 122–130.
264. Mitchell MD, Romero RJ, Edwin SS, Trautman MS. Prostaglandins and parturition. *Reprod Fertil Dev.* 1995;7(3):623-32.
265. Romero R, Tartakovsky B. The natural interleukin-1 receptor antagonist prevents interleukin-1-induced preterm delivery in mice. *Am J Obstet Gynecol.* 1992 Oct;167(4 Pt 1):1041-5.
266. Fidel PL Jr, Romero R, Cutright J, Wolf N, Gomez R, Araneda H, Ramirez M, Yoon BH. Treatment with the interleukin-I receptor antagonist and soluble tumor necrosis factor receptor Fc fusion protein does not prevent endotoxin-induced preterm parturition in mice. *J Soc Gynecol Investig.* 1997 Jan-Feb;4(1):22-6.
267. Koga K, Mor G. Toll-like receptors at the maternal-fetal interface in normal pregnancy and pregnancy disorders. *Am J Reprod Immunol.* 2010 Jun;63(6):587-600.
268. Gomez-Lopez N, Guilbert LJ, Olson DM. Invasion of the leukocytes into the fetal-maternal interface during pregnancy. *J Leukoc Biol.* 2010 Oct;88(4):625-33.
269. Akira S, Takeda K, Kaisho T. Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol.* 2001 Aug;2(8):675-80.
270. Fazeli A, Bruce C, Anumba DO. Characterization of Toll-like receptors in the female reproductive tract in humans. *Hum Reprod.* 2005 May;20(5):1372-8.
271. Hamilton S, Oomomian Y, Stephen G, Shynlova O, Tower CL, Garrod A, Lye SJ, Jones RL. Macrophages infiltrate the human and rat decidua during term and preterm labor: evidence that decidual inflammation precedes labor. *Biol Reprod.* 2012 Feb 14;86(2):39.
272. Jacobsson B, Mattsby-Baltzer I, Andersch B, Bokström H, Holst RM, Nikolaitchouk N, Wennerholm UB, Hagberg H. Microbial invasion and cytokine response in amniotic fluid in a Swedish population of women with preterm prelabor rupture of membranes. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2003 May;82(5):423-31.
273. Torbé A, Czajka R, Kordek A, Rzepka R, Kwiatkowski S, Rudnicki J. Maternal serum proinflammatory cytokines in preterm labor with intact membranes: neonatal outcome and histological associations. *Eur Cytokine Netw.* 2007 Jun;18(2):102-7.
274. Liong S, Di Quinzio MK, Fleming G, Permezel M, Rice GE, Georgiou HM. Prediction of spontaneous preterm labour in at-risk pregnant women. *Reproduction.* 2013 Aug 21;146(4):335-45.
275. Tribe RM, Moriarty P, Dalrymple A, Hassoni AA, Poston L. Interleukin-1beta induces calcium transients and enhances basal and store operated calcium entry in human myometrial smooth muscle. *Biol Reprod.* 2003 May;68(5):1842-9.
276. Dalrymple A, Slater DM, Poston L, Tribe RM. Physiological induction of transient receptor potential canonical proteins, calcium entry channels, in human myometrium: influence of pregnancy, labor, and interleukin-1 beta. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Mar;89(3):1291-300.
277. Young JE, Friedman CI, Danforth DR. Interleukin-1 beta modulates prostaglandin and progesterone production by primate luteal cells in vitro. *Biol Reprod.* 1997 Mar;56(3):663-7.

278. Markovic D, Vatish M, Gu M, Slater D, Newton R, Lehnert H, Grammatopoulos DK. The onset of labor alters corticotropin-releasing hormone type 1 receptor variant expression in human myometrium: putative role of interleukin-1beta. *Endocrinology*. 2007 Jul;148(7):3205-13.
279. Kossintseva I, Wong S, Johnstone E, Guilbert L, Olson DM, Mitchell BF. Proinflammatory cytokines inhibit human placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 activity through Ca²⁺ and cAMP pathways. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006 Feb;290(2):E282-8.
280. Narahara H, Johnston JM. Effects of endotoxins and cytokines on the secretion of platelet-activating factor-acetylhydrolase by human decidual macrophages. *Am J Obstet Gynecol*. 1993 Sep;169(3):531-7.
281. Osman I, Young A, Ledingham MA, Thomson AJ, Jordan F, Greer IA, Norman JE. Leukocyte density and pro-inflammatory cytokine expression in human fetal membranes, decidua, cervix and myometrium before and during labour at term. *Mol Hum Reprod*. 2003 Jan;9(1):41-5.
282. Elliott CL, Loudon JA, Brown N, Slater DM, Bennett PR, Sullivan MH. IL-1beta and IL-8 in human fetal membranes: changes with gestational age, labor, and culture conditions. *Am J Reprod Immunol*. 2001 Oct;46(4):260-7.
283. Puchner K, Iavazzo C, Gourgiotis D, Boutsikou M, Baka S, Hassiakos D, Kouskouni E, Economou E, Malamitsi-Puchner A, Creatsas G. Mid-trimester amniotic fluid interleukins (IL-1 β , IL-10 and IL-18) as possible predictors of preterm delivery. *In Vivo*. 2011 Jan-Feb;25(1):141-8.
284. Vitoratos N, Mastorakos G, Kountouris A, Papadias K, Creatsas G. Positive association of serum interleukin-1beta and CRH levels in women with pre-term labor. *J Endocrinol Invest*. 2007 Jan;30(1):35-40.
285. Himes KP, Handley D, Chu T, Burke B, Bunce K, Simhan HN, Peters DG. Comprehensive analysis of the transcriptional response of human decidual cells to lipopolysaccharide stimulation. *J Reprod Immunol*. 2012 Jan;93(1):17-27.
286. Pavlov O, Pavlova O, Ailamazyan E, Selkov S. Characterization of cytokine production by human term placenta macrophages in vitro. *Am J Reprod Immunol*. 2008 Dec;60(6):556-67.
287. Zaragoza DB, Wilson RR, Mitchell BF, Olson DM. The interleukin 1beta-induced expression of human prostaglandin F₂alpha receptor messenger RNA in human myometrial-derived ULTR cells requires the transcription factor, NFkappaB. *Biol Reprod*. 2006 Nov;75(5):697-704.
288. Chevillard G, Derjuga A, Devost D, Zingg HH, Blank V. Identification of interleukin-1beta regulated genes in uterine smooth muscle cells. *Reproduction*. 2007 Dec;134(6):811-22.
289. Marconi C, de Andrade Ramos BR, Peraçoli JC, Donders GG, da Silva MG. Amniotic fluid interleukin-1 beta and interleukin-6, but not interleukin-8 correlate with microbial invasion of the amniotic cavity in preterm labor. *Am J Reprod Immunol*. 2011 Jun;65(6):549-56.
290. Dubicke A, Fransson E, Centini G, Andersson E, Byström B, Malmström A, Petraglia F, Sverremark-Ekström E, Ekman-Ordeberg G. Pro-inflammatory and anti-inflammatory

- cytokines in human preterm and term cervical ripening. *J Reprod Immunol*. 2010 Mar;84(2):176-85.
291. Ruiz RJ, Jallo N, Murphey C, Marti CN, Godbold E, Pickler RH. Second trimester maternal plasma levels of cytokines IL-1Ra, IL-6 and IL-10 and preterm birth. *J Perinatol*. 2012 Jul;32(7):483-90.
292. Skogstrand K, Hougaard DM, Schendel DE, Bent NP, Svaerke C, Thorsen P. Association of preterm birth with sustained postnatal inflammatory response. *Obstet Gynecol*. 2008 May;111(5):1118-28.
293. Presicce P, Park CW, Sentharamaikkannan P, Bhattacharyya S, Jackson C, Kong F, Rueda CM, DeFranco E, Miller LA, Hildeman DA, Salomonis N, Chougnet CA, Jobe AH, Kallapur SG. IL-1 signaling mediates intrauterine inflammation and chorio-decidua neutrophil recruitment and activation. *JCI Insight*. 2018 Mar 22;3(6):e98306.
294. LaMarca HL, Dash PR, Vishnuthavan K, Harvey E, Sullivan DE, Morris CA, Whitley GS. Epidermal growth factor-stimulated extravillous cytotrophoblast motility is mediated by the activation of PI3-K, Akt and both p38 and p42/44 mitogen-activated protein kinases. *Hum Reprod*. 2008 Aug;23(8):1733-41.
295. Vaillancourt C, Lanoix D, Le Bellego F, Daoud G, Lafond J. Involvement of MAPK signalling in human villous trophoblast differentiation. *Mini Rev Med Chem*. 2009 Jul;9(8):962-73.
296. Coyle AJ, Lloyd C, Tian J, Nguyen T, Eriksson C, Wang L, Ottoson P, Persson P, Delaney T, Lehar S, Lin S, Poisson L, Meisel C, Kamradt T, Bjerke T, Levinson D, Gutierrez-Ramos JC. Crucial role of the interleukin 1 receptor family member T1/ST2 in T helper cell type 2-mediated lung mucosal immune responses. *J Exp Med*. 1999 Oct 4;190(7):895-902.
297. Bozić M, Petronijević M, Milenković S, Atanacković J, Lazić J, Vićovac Lj. Galectin-1 and galectin-3 in the trophoblast of the gestational trophoblastic disease. *Placenta*. 2004 Nov;25(10):797-802.
298. Barondes SH, Cooper DN, Gitt MA, Leffler H. Galectins. Structure and function of a large family of animal lectins. *J Biol Chem*. 1994 Aug 19;269(33):20807-10.
299. Iglesias MM, Rabinovich GA, Ambrosio AL, Castagna LF, Sotomayor CE, Wolfenstein-Todel C. Purification of galectin-3 from ovine placenta: developmentally regulated expression and immunological relevance. *Glycobiology*. 1998 Jan;8(1):59-65.
300. Barondes SH, Castronovo V, Cooper DN, Cummings RD, Drickamer K, Feizi T, Gitt MA, Hirabayashi J, Hughes C, Kasai K, et al. Galectins: a family of animal beta-galactoside-binding lectins. *Cell*. 1994 Feb 25;76(4):597-8.
301. Kasai K, Hirabayashi J. Galectins: a family of animal lectins that decipher glycodes. *J Biochem*. 1996 Jan;119(1):1-8.
302. Yang RY, Rabinovich GA, Liu FT. Galectins: structure, function and therapeutic potential. *Expert Rev Mol Med*. 2008 Jun 13;10:e17.
303. Cooper DN, Barondes SH. God must love galectins; he made so many of them. *Glycobiology*. 1999 Oct;9(10):979-84.

304. Lin YH, Qiu DC, Chang WH, Yeh YQ, Jeng US, Liu FT, Huang JR. The intrinsically disordered N-terminal domain of galectin-3 dynamically mediates multisite self-association of the protein through fuzzy interactions. *J Biol Chem.* 2017 Oct 27;292(43):17845-17856.
305. Gong HC, Honjo Y, Nangia-Makker P, Hogan V, Mazurak N, Bresalier RS, Raz A. The NH2 terminus of galectin-3 governs cellular compartmentalization and functions in cancer cells. *Cancer Res.* 1999 Dec 15;59(24):6239-45.
306. Menon RP, Hughes RC. Determinants in the N-terminal domains of galectin-3 for secretion by a novel pathway circumventing the endoplasmic reticulum-Golgi complex. *Eur J Biochem.* 1999 Sep;264(2):569-76.
307. Ochieng J, Green B, Evans S, James O, Warfield P. Modulation of the biological functions of galectin-3 by matrix metalloproteinases. *Biochim Biophys Acta.* 1998 Jan 8;1379(1):97-106.
308. Yoshii T, Fukumori T, Honjo Y, Inohara H, Kim HR, Raz A. Galectin-3 phosphorylation is required for its anti-apoptotic function and cell cycle arrest. *J Biol Chem.* 2002 Mar 1;277(9):6852-7.
309. Ippel H, Miller MC, Vértessy S, Zheng Y, Cañada FJ, Suylen D, Umemoto K, Romanò C, Hackeng T, Tai G, Leffler H, Kopitz J, André S, Kübler D, Jiménez-Barbero J, Oscarson S, Gabius HJ, Mayo KH. Intra- and intermolecular interactions of human galectin-3: assessment by full-assignment-based NMR. *Glycobiology.* 2016 Aug;26(8):888-903.
310. Yang RY, Hsu DK, Liu FT. Expression of galectin-3 modulates T-cell growth and apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 Jun 25;93(13):6737-42.
311. Dumić J, Dabelić S, Flögel M. Galectin-3: an open-ended story. *Biochim Biophys Acta.* 2006 Apr;1760(4):616-35.
312. Thijssen VL, Poirier F, Baum LG, Griffioen AW. Galectins in the tumor endothelium: opportunities for combined cancer therapy. *Blood.* 2007 Oct 15;110(8):2819-27.
313. Lotz MM, Andrews CW Jr, Korzelius CA, Lee EC, Steele GD Jr, Clarke A, Mercurio AM. Decreased expression of Mac-2 (carbohydrate binding protein 35) and loss of its nuclear localization are associated with the neoplastic progression of colon carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993 Apr 15;90(8):3466-70.
314. Honjo Y, Inohara H, Akahani S, Yoshii T, Takenaka Y, Yoshida J, Hattori K, Tomiyama Y, Raz A, Kubo T. Expression of cytoplasmic galectin-3 as a prognostic marker in tongue carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2000 Dec;6(12):4635-40.
315. Puglisi F, Minisini AM, Barbone F, Intersimone D, Aprile G, Puppini C, Damante G, Paron I, Tell G, Piga A, Di Loreto C. Galectin-3 expression in non-small cell lung carcinoma. *Cancer Lett.* 2004 Aug 30;212(2):233-9.
316. Moutsatsos IK, Wade M, Schindler M, Wang JL. Endogenous lectins from cultured cells: nuclear localization of carbohydrate-binding protein 35 in proliferating 3T3 fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987 Sep;84(18):6452-6.
317. Openo KP, Kadrofske MM, Patterson RJ, Wang JL. Galectin-3 expression and subcellular localization in senescent human fibroblasts. *Exp Cell Res.* 2000 Mar 15;255(2):278-90.
318. Bojić-Trbojević Ž, Jovanović Krivokuća M, Vilotić A, Kolundžić N, Stefanoska I, Zetterberg F, Nilsson UJ, Leffler H, Vićovac L. Human trophoblast requires galectin-3 for cell migration and invasion. *Sci Rep.* 2019 Feb 14;9(1):2136.

319. Johannes L, Jacob R, Leffler H. Galectins at a glance. *J Cell Sci.* 2018 May 1;131(9):jcs208884.
320. Hutter S, Knabl J, Andergassen U, Hofmann S, Kuhn C, Mahner S, Arck P, Jeschke U. Placental Expression Patterns of Galectin-1, Galectin-2, Galectin-3 and Galectin-13 in Cases of Intrauterine Growth Restriction (IUGR). *Int J Mol Sci.* 2016 Apr 7;17(4):523.
321. Paclik D, Werner L, Guckelberger O, Wiedenmann B, Sturm A. Galectins distinctively regulate central monocyte and macrophage function. *Cell Immunol.* 2011 Jun 15;271(1):97-103.
322. Demmert M, Faust K, Bohlmann MK, Tröger B, Göpel W, Herting E, Härtel C. Galectin-3 in cord blood of term and preterm infants. *Clin Exp Immunol.* 2012 Feb;167(2):246-51.
323. Miyauchi M, Ao M, Furusho H, Chea C, Nagasaki A, Sakamoto S, Ando T, Inubushi T, Kozai K, Takata T. Galectin-3 Plays an Important Role in Preterm Birth Caused by Dental Infection of *Porphyromonas gingivalis*. *Sci Rep.* 2018 Feb 12;8(1):2867.
324. Filer A, Bik M, Parsonage GN, Fitton J, Trebilcock E, Howlett K, Cook M, Raza K, Simmons DL, Thomas AM, Salmon M, Scheel-Toellner D, Lord JM, Rabinovich GA, Buckley CD. Galectin 3 induces a distinctive pattern of cytokine and chemokine production in rheumatoid synovial fibroblasts via selective signaling pathways. *Arthritis Rheum.* 2009 Jun;60(6):1604-14.
325. Xiao Q, Zeng FL, Tang GY, Lei CY, Zou XX, Liu XL, Peng BL, Qin S, Li HX. Expression of galectin-3 and apoptosis in placental villi from patients with missed abortion during early pregnancy. *Exp Ther Med.* 2019 Apr;17(4):2623-2631.
326. Akahani S, Nangia-Makker P, Inohara H, Kim HR, Raz A. Galectin-3: a novel antiapoptotic molecule with a functional BH1 (NWGR) domain of Bcl-2 family. *Cancer Res.* 1997 Dec 1;57(23):5272-6.
327. Kim HR, Lin HM, Biliran H, Raz A. Cell cycle arrest and inhibition of anoikis by galectin-3 in human breast epithelial cells. *Cancer Res.* 1999 Aug 15;59(16):4148-54.
328. Yu F, Finley RL Jr, Raz A, Kim HR. Galectin-3 translocates to the perinuclear membranes and inhibits cytochrome c release from the mitochondria. A role for synexin in galectin-3 translocation. *J Biol Chem.* 2002 May 3;277(18):15819-27.
329. Phillips B, Knisley K, Weitlauf KD, Dorsett J, Lee V, Weitlauf H. Differential expression of two beta-galactoside-binding lectins in the reproductive tracts of pregnant mice. *Biol Reprod.* 1996 Sep;55(3):548-58.
330. Yang H, Taylor HS, Lei C, Cheng C, Zhang W. Hormonal regulation of galectin 3 in trophoblasts and its effects on endometrium. *Reprod Sci.* 2011 Nov;18(11):1118-27.
331. von Wolff M, Wang X, Gabius HJ, Strowitzki T. Galectin fingerprinting in human endometrium and decidua during the menstrual cycle and in early gestation. *Mol Hum Reprod.* 2005 Mar;11(3):189-94.
332. Lei CX, Zhang W, Zhou JP, Liu YK. Interactions between galectin-3 and integrin beta3 in regulating endometrial cell proliferation and adhesion. *Hum Reprod.* 2009 Nov;24(11):2879-89.

333. Okano A, Ogawa H, Takahashi H, Geshi M. Apoptosis in the porcine uterine endometrium during the estrous cycle, early pregnancy and post partum. *J Reprod Dev.* 2007 Aug;53(4):923-30.
334. Joswig A, Gabriel HD, Kibschull M, Winterhager E. Apoptosis in uterine epithelium and decidua in response to implantation: evidence for two different pathways. *Reprod Biol Endocrinol.* 2003 May 26;1:44.
335. Yang H, Xie Y, Yang R, Wei SL, Xi Q. Expression of p16INK4a in mouse endometrium and its effect during blastocyst implantation. *Sheng Li Xue Bao.* 2008 Aug 25;60(4):547-52.
336. Wang B, Xiao C, Goff AK. Progesterone-modulated induction of apoptosis by interferon-tau in cultured epithelial cells of bovine endometrium. *Biol Reprod.* 2003 Feb;68(2):673-9.
337. Galán A, O'Connor JE, Valbuena D, Herrer R, Remohí J, Pampfer S, Pellicer A, Simón C. The human blastocyst regulates endometrial epithelial apoptosis in embryonic adhesion. *Biol Reprod.* 2000 Aug;63(2):430-9.
338. Sengupta J, Ghosh D. Role of progesterone on peri-implantation stage endometrium-embryo interaction in the primate. *Steroids.* 2000 Oct-Nov;65(10-11):753-62.
339. Lessey BA, Gui Y, Apparao KB, Young SL, Mulholland J. Regulated expression of heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF) in the human endometrium: a potential paracrine role during implantation. *Mol Reprod Dev.* 2002 Aug;62(4):446-55.
340. Albrecht ED, Bonagura TW, Burleigh DW, Enders AC, Aberdeen GW, Pepe GJ. Suppression of extravillous trophoblast invasion of uterine spiral arteries by estrogen during early baboon pregnancy. *Placenta.* 2006 Apr-May;27(4-5):483-90.
341. Bonagura TW, Pepe GJ, Enders AC, Albrecht ED. Suppression of extravillous trophoblast vascular endothelial growth factor expression and uterine spiral artery invasion by estrogen during early baboon pregnancy. *Endocrinology.* 2008 Oct;149(10):5078-87.
342. Fukumori T, Takenaka Y, Yoshii T, Kim HR, Hogan V, Inohara H, Kagawa S, Raz A. CD29 and CD7 mediate galectin-3-induced type II T-cell apoptosis. *Cancer Res.* 2003 Dec 1;63(23):8302-11.
343. Suzuki O, Abe M. Cell surface N-glycosylation and sialylation regulate galectin-3-induced apoptosis in human diffuse large B cell lymphoma. *Oncol Rep.* 2008 Mar;19(3):743-8.
344. Freitag N, Tirado-González I, Barrientos G, Cohen M, Daher S, Goldman-Wohl D, Mincheva-Nilsson L, John CM, Jeschke U, Blois SM. The chimera-type galectin-3 is a positive modulator of trophoblast functions with dysregulated expression in gestational diabetes mellitus. *Am J Reprod Immunol.* 2020 Dec;84(6):e13311.
345. Nio-Kobayashi J, Boswell L, Amano M, Iwanaga T, Duncan WC. The loss of luteal progesterone production in women is associated with a galectin switch via α 2,6-sialylation of glycoconjugates. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014 Dec;99(12):4616-24.
346. Vićovac L, Janković M, Cuperlović M. Galectin-1 and -3 in cells of the first trimester placental bed. *Hum Reprod.* 1998 Mar;13(3):730-5.
347. Maquoi E, van den Brûle FA, Castronovo V, Foidart JM. Changes in the distribution pattern of galectin-1 and galectin-3 in human placenta correlates with the differentiation pathways of trophoblasts. *Placenta.* 1997 Jul-Aug;18(5-6):433-9.

348. Nelson DM. Apoptotic changes occur in syncytiotrophoblast of human placental villi where fibrin type fibrinoid is deposited at discontinuities in the villous trophoblast. *Placenta*. 1996 Sep;17(7):387-91.
349. Mayhew TM, Leach L, McGee R, Ismail WW, Myklebust R, Lammiman MJ. Proliferation, differentiation and apoptosis in villous trophoblast at 13-41 weeks of gestation (including observations on annulate lamellae and nuclear pore complexes). *Placenta*. 1999 Jul-Aug;20(5-6):407-22.
350. Yang H, Lei C, Cheng C, Feng Y, Zhang W, Petracco RG, Sak S. The antiapoptotic effect of galectin-3 in human endometrial cells under the regulation of estrogen and progesterone. *Biol Reprod*. 2012 Aug 23;87(2):39.
351. Stefanoska I, Tadić J, Vilotić A, Jovanović Krivokuća M, Abu Rabi T, Vićovac L. Histological chorioamnionitis in preterm prelabor rupture of the membranes is associated with increased expression of galectin-3 by amniotic epithelium. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2017 Sep;30(18):2232-2236.
352. Than NG, Kim SS, Abbas A, Han YM, Hotra J, Tarca AL, Erez O, Wildman DE, Kusanovic JP, Pineles B, Montenegro D, Edwin SS, Mazaki-Tovi S, Gotsch F, Espinoza J, Hassan SS, Papp Z, Romero R. Chorioamnionitis and increased galectin-1 expression in PPRM --an anti-inflammatory response in the fetal membranes? *Am J Reprod Immunol*. 2008 Oct;60(4):298-311.
353. Wang L, Inohara H, Pienta KJ, Raz A. Galectin-3 is a nuclear matrix protein which binds RNA. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995 Dec 5;217(1):292-303.
354. Sano H, Hsu DK, Yu L, Apgar JR, Kuwabara I, Yamanaka T, Hirashima M, Liu FT. Human galectin-3 is a novel chemoattractant for monocytes and macrophages. *J Immunol*. 2000 Aug 15;165(4):2156-64.
355. Karlsson A, Christenson K, Matlak M, Björstad A, Brown KL, Telemo E, Salomonsson E, Leffler H, Bylund J. Galectin-3 functions as an opsonin and enhances the macrophage clearance of apoptotic neutrophils. *Glycobiology*. 2009 Jan;19(1):16-20.
356. Talmor-Barkan Y, Chezdar-Azerrad C, Kruchin B, Leshem-Lev D, Levi A, Hadar E, Kornowski R, Tenenbaum-Gavish K, Porter A. Elevated galectin-3 in women with gestational diabetes mellitus, a new surrogate for cardiovascular disease in women. *PLoS One*. 2020 Jun 17;15(6):e0234732.
357. Ghorbanpour SM, Richards C, Pienaar D, Sesperez K, Aboulkheyr Es H, Nikolic VN, Karadzov Orlic N, Mikovic Z, Stefanovic M, Cakic Z, Alqudah A, Cole L, Gorrie C, McGrath K, Kavurma MM, Ebrahimi Warkiani M, McClements L. A placenta-on-a-chip model to determine the regulation of FKBPL and galectin-3 in preeclampsia. *Cell Mol Life Sci*. 2023 Jan 18;80(2):44.
358. Jeschke U, Mayr D, Schiessl B, Mylonas I, Schulze S, Kuhn C, Friese K, Walzel H. Expression of galectin-1, -3 (gal-1, gal-3) and the Thomsen-Friedenreich (TF) antigen in normal, IUGR, preeclamptic and HELLP placentas. *Placenta*. 2007 Nov-Dec;28(11-12):1165-73.
359. Kandel M, Tong S, Walker SP, Cannon P, Nguyen TV, MacDonald TM, Hannan NJ, Kaitu'u-Lino TJ, Bartho LA. Placental galectin-3 is reduced in early-onset preeclampsia. *Front Physiol*. 2022 Oct 14;13:1037597.

360. Pankiewicz K, Szczerba E, Fijalkowska A, Szamotulska K, Szewczyk G, Issat T, Maciejewski TM. The association between serum galectin-3 level and its placental production in patients with preeclampsia. *J Physiol Pharmacol*. 2020 Dec;71(6).
361. Freitag N, Tirado-Gonzalez I, Barrientos G, Powell KL, Boehm-Sturm P, Koch SP, Hecher K, Staff AC, Arck PC, Diemert A, Blois SM. Galectin-3 deficiency in pregnancy increases the risk of fetal growth restriction (FGR) via placental insufficiency. *Cell Death Dis*. 2020 Jul 23;11(7):560.
362. Amarilyo G, Oren A, Mimouni FB, Ochshorn Y, Deutsch V, Mandel D. Increased cord serum inflammatory markers in small-for-gestational-age neonates. *J Perinatol*. 2011 Jan;31(1):30-2.
363. Yang RY, Liu FT. Galectins in cell growth and apoptosis. *Cell Mol Life Sci*. 2003 Feb;60(2):267-76.
364. Kaur S, Bansal Y, Kumar R, Bansal G. A panoramic review of IL-6: Structure, pathophysiological roles and inhibitors. *Bioorg Med Chem*. 2020 Mar 1;28(5):115327.
365. Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D, Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim Biophys Acta*. 2011 May;1813(5):878-88.
366. Kang S, Narazaki M, Metwally H, Kishimoto T. Historical overview of the interleukin-6 family cytokine. *J Exp Med*. 2020 May 4;217(5):e20190347.
367. Kishimoto T, Ishizaka K. Regulation of antibody response in vitro. X. Biphasic effect of cyclic AMP on the secondary anti-hapten antibody response to anti-immunoglobulin and enhancing soluble factor. *J Immunol*. 1976 Feb;116(2):534-41.
368. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014 Sep 4;6(10):a016295.
369. Hirano T, Yasukawa K, Harada H, Taga T, Watanabe Y, Matsuda T, Kashiwamura S, Nakajima K, Koyama K, Iwamatsu A, et al. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature*. 1986 Nov 6-12;324(6092):73-6.
370. Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood*. 1989 Jul;74(1):1-10.
371. Varghese JN, Moritz RL, Lou MZ, Van Donkelaar A, Ji H, Ivancic N, Branson KM, Hall NE, Simpson RJ. Structure of the extracellular domains of the human interleukin-6 receptor alpha -chain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Dec 10;99(25):15959-64.
372. Briso EM, Dienz O, Rincon M. Cutting edge: soluble IL-6R is produced by IL-6R ectodomain shedding in activated CD4 T cells. *J Immunol*. 2008 Jun 1;180(11):7102-6.
373. Garbers C, Hermanns HM, Schaper F, Müller-Newen G, Grötzinger J, Rose-John S, Scheller J. Plasticity and cross-talk of interleukin 6-type cytokines. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2012 Jun;23(3):85-97.
374. Masjedi A, Hashemi V, Hojjat-Farsangi M, Ghalamfarsa G, Azizi G, Yousefi M, Jadidi-Niaragh F. The significant role of interleukin-6 and its signaling pathway in the immunopathogenesis and treatment of breast cancer. *Biomed Pharmacother*. 2018 Dec;108:1415-1424.
375. Song M, Kellum JA. Interleukin-6. *Crit Care Med*. 2005 Dec;33(12 Suppl):S463-5.

376. Liuzzi JP, Lichten LA, Rivera S, Blanchard RK, Aydemir TB, Knutson MD, Ganz T, Cousins RJ. Interleukin-6 regulates the zinc transporter Zip14 in liver and contributes to the hypozincemia of the acute-phase response. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 May 10;102(19):6843-8.
377. Hashizume M, Hayakawa N, Suzuki M, Mihara M. IL-6/sIL-6R trans-signalling, but not TNF-alpha induced angiogenesis in a HUVEC and synovial cell co-culture system. *Rheumatol Int*. 2009 Oct;29(12):1449-54.
378. Jilka RL, Hangoc G, Girasole G, Passeri G, Williams DC, Abrams JS, Boyce B, Broxmeyer H, Manolagas SC. Increased osteoclast development after estrogen loss: mediation by interleukin-6. *Science*. 1992 Jul 3;257(5066):88-91.
379. Johnston PA, Grandis JR. STAT3 signaling: anticancer strategies and challenges. *Mol Interv*. 2011 Feb;11(1):18-26.
380. Quintana A, Müller M, Frausto RF, Ramos R, Getts DR, Sanz E, Hofer MJ, Krauthausen M, King NJ, Hidalgo J, Campbell IL. Site-specific production of IL-6 in the central nervous system retargets and enhances the inflammatory response in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol*. 2009 Aug 1;183(3):2079-88.
381. Quintanilla RA, Orellana DI, González-Billault C, Maccioni RB. Interleukin-6 induces Alzheimer-type phosphorylation of tau protein by deregulating the cdk5/p35 pathway. *Exp Cell Res*. 2004 Apr 15;295(1):245-57.
382. Nakahara H, Song J, Sugimoto M, Hagihara K, Kishimoto T, Yoshizaki K, Nishimoto N. Anti-interleukin-6 receptor antibody therapy reduces vascular endothelial growth factor production in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2003 Jun;48(6):1521-9.
383. Zhao N, Zhang AS, Enns CA. Iron regulation by hepcidin. *J Clin Invest*. 2013 Jun;123(6):2337-43.
384. Vilotić A, Nacka-Aleksić M, Pirković A, Bojić-Trbojević Ž, Dekanski D, Jovanović Krivokuća M. IL-6 and IL-8: An Overview of Their Roles in Healthy and Pathological Pregnancies. *Int J Mol Sci*. 2022 Nov 23;23(23):14574.
385. Fu Y, Tang L, Hu M, Xiang Z, Hu Y. Changes of serum interleukin-6 in healthy pregnant women and establishment of relevant reference intervals. *Clin Chim Acta*. 2020 Mar;502:116-119.
386. Curry AE, Vogel I, Skogstrand K, Drews C, Schendel DE, Flanders WD, Hougaard DM, Thorsen P. Maternal plasma cytokines in early- and mid-gestation of normal human pregnancy and their association with maternal factors. *J Reprod Immunol*. 2008 Apr;77(2):152-60.
387. Christian LM, Porter K. Longitudinal changes in serum proinflammatory markers across pregnancy and postpartum: effects of maternal body mass index. *Cytokine*. 2014 Dec;70(2):134-40.
388. Ross KM, Miller G, Culhane J, Grobman W, Simhan HN, Wadhwa PD, Williamson D, McDade T, Buss C, Entringer S, Adam E, Qadir S, Keenan-Devlin L, Leigh AK, Borders A. Patterns of peripheral cytokine expression during pregnancy in two cohorts and associations with inflammatory markers in cord blood. *Am J Reprod Immunol*. 2016 Nov;76(5):406-414.
389. Doria A, Cutolo M, Ghirardello A, Zen M, Villalta D, Tincani A, Punzi L, Iaccarino L, Petri M. Effect of pregnancy on serum cytokines in SLE patients. *Arthritis Res Ther*. 2012 Mar 14;14(2):R66.

390. Choudhury RH, Dunk CE, Lye SJ, Aplin JD, Harris LK, Jones RL. Extravillous Trophoblast and Endothelial Cell Crosstalk Mediates Leukocyte Infiltration to the Early Remodeling Decidual Spiral Arteriole Wall. *J Immunol*. 2017 May 15;198(10):4115-4128.
391. Plana-Carmona M, Stik G, Bulteau R, Segura-Morales C, Alcázar N, Wyatt CDR, Klonizakis A, de Andrés-Aguayo L, Gasnier M, Tian TV, Torcal Garcia G, Vila-Casadesús M, Plachta N, Serrano M, Francesconi M, Graf T. The trophoblast acts as a niche for the inner cell mass through C/EBP α -regulated IL-6 signaling. *Stem Cell Reports*. 2022 Sep 13;17(9):1991-2004.
392. Nishino E, Matsuzaki N, Masuhiro K, Kameda T, Taniguchi T, Takagi T, Saji F, Tanizawa O. Trophoblast-derived interleukin-6 (IL-6) regulates human chorionic gonadotropin release through IL-6 receptor on human trophoblasts. *J Clin Endocrinol Metab*. 1990 Aug;71(2):436-41.
393. Stephanou A, Handwerger S. Interleukin-6 stimulates placental lactogen expression by human trophoblast cells. *Endocrinology*. 1994 Aug;135(2):719-23.
394. Markert UR, Morales-Prieto DM, Fitzgerald JS. Understanding the link between the IL-6 cytokine family and pregnancy: implications for future therapeutics. *Expert Rev Clin Immunol*. 2011 Sep;7(5):603-9.
395. Classen-Linke I, Müller-Newen G, Heinrich PC, Beier HM, von Rango U. The cytokine receptor gp130 and its soluble form are under hormonal control in human endometrium and decidua. *Mol Hum Reprod*. 2004 Jul;10(7):495-504.
396. Friebe-Hoffmann U, Chiao JP, Rauk PN. Effect of IL-1 β and IL-6 on oxytocin secretion in human uterine smooth muscle cells. *Am J Reprod Immunol*. 2001 Sep;46(3):226-31.
397. Prairie E, Côté F, Tsakpinoglou M, Mina M, Quiniou C, Leimert K, Olson D, Chemtob S. The determinant role of IL-6 in the establishment of inflammation leading to spontaneous preterm birth. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2021 Jun;59:118-130.
398. Herrera CA, Stoerker J, Carlquist J, Stoddard GJ, Jackson M, Esplin S, Rose NC. Cell-free DNA, inflammation, and the initiation of spontaneous term labor. *Am J Obstet Gynecol*. 2017 Nov;217(5):583.e1-583.e8.
399. Akkaya Fırat A, Alıcı Davutoğlu E, Özel A, Güngör ZB, Madazlı R, Ulakoğlu Zengin E. Hypoxia-inducible factor-1 α , hepcidin and interleukin-6 levels in pregnancies with preterm labour. *J Obstet Gynaecol*. 2020 Aug;40(6):813-819.
400. Papatheodorou DC, Karagiannidis LK, Paltoglou G, Margeli A, Kaparos G, Valsamakis G, Chrousos GP, Creatsas G, Mastorakos G. Pulsatile interleukin-6 leads CRH secretion and is associated with myometrial contractility during the active phase of term human labor. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013 Oct;98(10):4105-12.
401. Thaker R, Oza H, Verma V, Gor M, Kumar S. The Association of Circulatory Cytokines (IL-6 and IL-10) Level with Spontaneous Abortion-a Preliminary Observation. *Reprod Sci*. 2021 Mar;28(3):857-864.
402. Laisk T, Soares ALG, Ferreira T, Painter JN, Censin JC, Laber S, Bacelis J, Chen CY, Lepamets M, Lin K, Liu S, Millwood IY, Ramu A, Southcombe J, Andersen MS, Yang L, Becker CM, Børghlum AD, Gordon SD, Bybjerg-Grauholm J, Helgeland Ø, Hougaard DM, Jin X, Johansson S, Juodakis J, Kartsonaki C, Kukushkina V, Lind PA, Metspalu A, Montgomery GW, Morris AP, Mors O, Mortensen PB, Njølstad PR, Nordentoft M, Nyholt DR, Lippincott

M, Seminara S, Salumets A, Snieder H, Zondervan K, Werge T, Chen Z, Conrad DF, Jacobsson B, Li L, Martin NG, Neale BM, Nielsen R, Walters RG, Granne I, Medland SE, Mägi R, Lawlor DA, Lindgren CM. The genetic architecture of sporadic and multiple consecutive miscarriage. *Nat Commun*. 2020 Nov 25;11(1):5980.

403. Wei SQ, Fraser W, Luo ZC. Inflammatory cytokines and spontaneous preterm birth in asymptomatic women: a systematic review. *Obstet Gynecol*. 2010 Aug;116(2 Pt 1):393-401.

404. Wakabayashi A, Sawada K, Nakayama M, Toda A, Kimoto A, Mabuchi S, Kinose Y, Nakamura K, Takahashi K, Kurachi H, Kimura T. Targeting interleukin-6 receptor inhibits preterm delivery induced by inflammation. *Mol Hum Reprod*. 2013 Nov;19(11):718-26.

405. Zegeye MM, Lindkvist M, Fälker K, Kumawat AK, Paramel G, Grenegård M, Sirsjö A, Ljungberg LU. Activation of the JAK/STAT3 and PI3K/AKT pathways are crucial for IL-6 trans-signaling-mediated pro-inflammatory response in human vascular endothelial cells. *Cell Commun Signal*. 2018 Sep 5;16(1):55.

406. Gomez-Lopez N, Romero R, Leng Y, Xu Y, Slutsky R, Levenson D, Pacora P, Jung E, Panaitescu B, Hsu CD. The origin of amniotic fluid monocytes/macrophages in women with intra-amniotic inflammation or infection. *J Perinat Med*. 2019 Oct 25;47(8):822-840.

407. Jena MK, Nayak N, Chen K, Nayak NR. Role of Macrophages in Pregnancy and Related Complications. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2019 Oct;67(5):295-309.

408. Yao Y, Xu XH, Jin L. Macrophage Polarization in Physiological and Pathological Pregnancy. *Front Immunol*. 2019 Apr 15;10:792.

409. Kaplanski G, Marin V, Montero-Julian F, Mantovani A, Farnarier C. IL-6: a regulator of the transition from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation. *Trends Immunol*. 2003 Jan;24(1):25-9.

410. Rana S, Lemoine E, Granger JP, Karumanchi SA. Preeclampsia: Pathophysiology, Challenges, and Perspectives. *Circ Res*. 2019 Mar 29;124(7):1094-1112.

411. Aggarwal R, Jain AK, Mittal P, Kohli M, Jawanjal P, Rath G. Association of pro- and anti-inflammatory cytokines in preeclampsia. *J Clin Lab Anal*. 2019 May;33(4):e22834.

412. Ma Y, Ye Y, Zhang J, Ruan CC, Gao PJ. Immune imbalance is associated with the development of preeclampsia. *Medicine (Baltimore)*. 2019 Apr;98(14):e15080.

413. Wang Y, Gu Y, Alexander JS, Lewis DF. Preeclampsia Status Controls Interleukin-6 and Soluble IL-6 Receptor Release from Neutrophils and Endothelial Cells: Relevance to Increased Inflammatory Responses. *Pathophysiology*. 2021 Apr 8;28(2):202-211.

414. Lau SY, Guild SJ, Barrett CJ, Chen Q, McCowan L, Jordan V, Chamley LW. Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, and interleukin-10 levels are altered in preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. *Am J Reprod Immunol*. 2013 Nov;70(5):412-27.

415. Ovayolu A, Turksoy VA, Ovayolu G, Ozek MA, Dogan I, Karaman E. Analyses of interleukin-6, presepsin and pentraxin-3 in the diagnosis and severity of late-onset preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2022 Jan;35(2):299-307.

416. Amirian A, Mahani MB, Abdi F. Role of interleukin-6 (IL-6) in predicting gestational diabetes mellitus. *Obstet Gynecol Sci*. 2020 Jul;63(4):407-416.

417. BISHOP EH. PELVIC SCORING FOR ELECTIVE INDUCTION. *Obstet Gynecol*. 1964 Aug;24:266-8.

418. Pejnovic NN, Pantic JM, Jovanovic IP, Radosavljevic GD, Milovanovic MZ, Nikolic IG, Zdravkovic NS, Djukic AL, Arsenijevic NN, Lukic ML. Galectin-3 deficiency accelerates high-fat diet-induced obesity and amplifies inflammation in adipose tissue and pancreatic islets. *Diabetes*. 2013 Jun;62(6):1932-44.
419. Altshuler G, Russell P. The human placental villitides: a review of chronic intrauterine infection. *Curr Top Pathol*. 1975;60:64-112.
420. Leimert KB, Xu W, Princ MM, Chemtob S, Olson DM. Inflammatory Amplification: A Central Tenet of Uterine Transition for Labor. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021 Aug 19;11:660983.
421. Nadeau-Vallée M, Quiniou C, Palacios J, Hou X, Erfani A, Madaan A, Sanchez M, Leimert K, Boudreault A, Duhamel F, Rivera JC, Zhu T, Noueihed B, Robertson SA, Ni X, Olson DM, Lubell W, Girard S, Chemtob S. Novel Noncompetitive IL-1 Receptor-Biased Ligand Prevents Infection- and Inflammation-Induced Preterm Birth. *J Immunol*. 2015 Oct 1;195(7):3402-15.
422. Kallapur SG, Presicce P, Senthamaraikannan P, Alvarez M, Tarantal AF, Miller LM, Jobe AH, Chougnat CA. Intra-amniotic IL-1 β induces fetal inflammation in rhesus monkeys and alters the regulatory T cell/IL-17 balance. *J Immunol*. 2013 Aug 1;191(3):1102-9.
423. Garry DJ, Baker DA, Persad MD, Peresleni T, Kocis C, Demishev M. Progesterone effects on vaginal cytokines in women with a history of preterm birth. *PLoS One*. 2018 Dec 31;13(12):e0209346.
424. Löb S, Amann N, Kuhn C, Schmoeckel E, Wöckel A, Zati Zehni A, Kaltofen T, Keckstein S, Mumm JN, Meister S, Kolben T, Mahner S, Jeschke U, Vilsmaier T. Interleukin-1 beta is significantly upregulated in the decidua of spontaneous and recurrent miscarriage placentas. *J Reprod Immunol*. 2021 Apr;144:103283.
425. Chen Z, Shan Y, You X, Gu H, Xu C, Long J, Ni X. NLRP3 inflammasome is involved in uterine activation for labor at term and preterm. *Reproduction*. 2021 Oct 30;162(6):449-460.
426. Gomez-Lopez N, StLouis D, Lehr MA, Sanchez-Rodriguez EN, Arenas-Hernandez M. Immune cells in term and preterm labor. *Cell Mol Immunol*. 2014 Nov;11(6):571-81.
427. Winkler M, Fischer DC, Ruck P, Marx T, Kaiserling E, Oberpichler A, Tschesche H, Rath W. Parturition at term: parallel increases in interleukin-8 and proteinase concentrations and neutrophil count in the lower uterine segment. *Hum Reprod*. 1999 Apr;14(4):1096-100.
428. Helmig BR, Romero R, Espinoza J, Chaiworapongsa T, Bujold E, Gomez R, Ohlsson K, Uldbjerg N. Neutrophil elastase and secretory leukocyte protease inhibitor in prelabor rupture of membranes, parturition and intra-amniotic infection. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2002 Oct;12(4):237-46.
429. Jeon SB, Yoon HJ, Chang CY, Koh HS, Jeon SH, Park EJ. Galectin-3 exerts cytokine-like regulatory actions through the JAK-STAT pathway. *J Immunol*. 2010 Dec 1;185(11):7037-46.
430. Uchino Y, Woodward AM, Mauris J, Peterson K, Verma P, Nilsson UJ, Rajaiya J, Argüeso P. Galectin-3 is an amplifier of the interleukin-1 β -mediated inflammatory response in corneal keratinocytes. *Immunology*. 2018 Jul;154(3):490-499.
431. El-Azzamy H, Balogh A, Romero R, Xu Y, LaJeunesse C, Plazyo O, Xu Z, Price TG, Dong Z, Tarca AL, Papp Z, Hassan SS, Chaiworapongsa T, Kim CJ, Gomez-Lopez N, Than

NG. Characteristic Changes in Decidual Gene Expression Signature in Spontaneous Term Parturition. *J Pathol Transl Med.* 2017 May;51(3):264-283.

432. Kaya B, Turhan U, Sezer S, Kaya S, Dağ İ, Tayyar A. Maternal serum galectin-1 and galectin-3 levels in pregnancies complicated with preterm prelabor rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2020 Mar;33(5):861-868.

433. Faust K, Freitag N, Barrientos G, Hartel C, Blois SM. Galectin-Levels Are Elevated in Infants Born Preterm Due to Amniotic Infection and Rapidly Decline in the Neonatal Period. *Front Immunol.* 2021 Feb 25;11:599104.

434. Farladansky-Gershnel S, Dekel N, Biron-Shental T, Shechter-Maor G, Amiel A, Weisz A, Benchetrit S, Zitman-Gal T. Spontaneous Preterm Birth: Elevated Galectin-3 and Telomere Shortening May Reflect a Common Pathway of Enhanced Inflammation and Senescence. *Reprod Sci.* 2023 Feb;30(2):487-493.

БИОГРАФИЈА

Никола Д. Јовић је рођен 06. септембра 1987. године у Крагујевцу. Основну школу "Рада Шубакић" у Гружи завршио је као носилац дипломе "Вук Караџић". Средњу медицинску школу "Сестре Нинковић" у Крагујевцу завршио је 2006. године је као носилац дипломе "Вук Караџић" и дипломе "Сестре Нинковић" која се додељује најбољем ученику у генерацији. Факултет медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу завршио је 2012. године са просечном оценом 9.47. На истом факултету је положио специјалистички испит из гинекологије и акушерства 2019. године, са одличном оценом. Запошљен као специјалиста гинекологије и акушерства на Клиници за гинекологију и акушерство, УКЦ Крагујевац, и као асистент на Катедри за гинекологију и акушерство, ФМН Крагујевац, Универзитета у Крагујевцу. Студент је докторских академских студија на Факултету медицинских наука у Крагујевцу. Докторску дисертацију под називом "Повезаност експресије галеткина-3 и инфламацијских цитокина у претерминском порођају са хориоамнионитисом" под менторством проф. др Мирјане Варјачић пријавио је 2022. године. Од октобра 2023. године је на субспецијализацији из перинатологије на Медицинском факултету, Универзитета у Београду. Члан председништва Секције за перинаталну медицину, члан Лекарске коморе Србије и Српског лекарског друштва.

Аутор је једног рада и коаутор у 15 радова објављених у међународним часописима са рецензијом, као аутор и коаутор у 6 радова презентованих на домаћим и међународним стручним скуповима. Аутор је и два помоћна уџбеника, као и поглавља у једном уџбенику.

БИБЛИОГРАФИЈА

1. **Jovic N**, Milovanovic M, Jovic JJ, Ilic MB, Rakic D, Milenkovic V, Stojanovic B, Milovanovic J, Arsenijevic A, Arsenijevic N, Varjagic M. The Expression of IL-1 β Correlates with the Expression of Galectin-3 in the Tissue at the Maternal-Fetal Interface during the Term and Preterm Labor. *J Clin Med*. 2022 Nov 3;11(21):6521. doi: 10.3390/jcm11216521. PMID: 36362749; PMCID: PMC9656499. **M21, IF (2021)=5.098**
2. Rakic D, Joksimovic Jovic J, Jakovljevic V, Zivkovic V, Nikolic M, Sretenovic J, Nikolic M, **Jovic N**, Bicanin Ilic M, Arsenijevic P, Dimitrijevic A, Vulovic T, Ristic N, Bulatovic K, Bolevich S, Stijak L, Pantovic S. High Fat Diet Exaggerate Metabolic and Reproductive PCOS Features by Promoting Oxidative Stress: An Improved EV Model in Rats. *Medicina*. 2023; 59(6):1104. <https://doi.org/10.3390/medicina59061104>. **M22, IF (2021)=2.985**
3. Rakic D, Jakovljevic V, **Jovic N**, Bicanin Ilic M, Dimitrijevic A, Vulovic T, Arsenijevic P, Sretenovic J, Nikolic M, Petrovich Fisenko V, Bolevich S, Zarkovic G, Joksimovic Jovic J. The Potential of SGLT-2 Inhibitors in the Treatment of Polycystic Ovary Syndrome: The Current Status and Future Perspectives. *Biomedicines*. 2023 Mar 23;11(4):998. doi: 10.3390/biomedicines11040998. PMID: 37189616; PMCID: PMC10136160. **M22, IF (2021)=4.757**

Образац 1

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:

“ Повезаност експресије галектина-3 и инфламацијских цитокина у претерминском порођају са хориоамнионитисом “

представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,

У Крагујевцу, 14. јун 2023. године,


_____ потпис аутора

Образац 2

**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да су штампана и електронска верзија докторске дисертације под насловом:

“ Повезаност експресије галектина-3 и инфламацијских цитокина у претерминском порођају са хориоамнионитисом “

истоветне.

У Крагујевцу, 14. јун 2023. године,


потпис аутора

Образац 3

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, **Никола Јовић,**

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

“ Повезаност експресије галектина-3 и инфламацијских цитокина у претерминском порођају са хориоамнионитисом “

и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

не дозвољавам¹

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу, 14. јун 2023. године,


потпис аутора

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>