

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Γ' ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ & ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής: Καθηγητής Δ. Κασσάνος

Δ' ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής: Καθηγητής Γ. Πετρίκκος

**ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ
ΑΝΟΣΟΤΡΟΠΟΠΟΙΗΤΙΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ
ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ
ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ
ΚΥΗΣΗΣ**

ΠΟΛΥΖΟΥ ΗΛΕΚΤΡΑ

ΙΑΤΡΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ 2014

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

ΕΜΜΥΜΙ ΔΡΟΜΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ, ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ, ΚΑΙ ΥΓΕ-
ΙΑΝ, ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΔΑ, ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑ
ΝΗΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ Δ
ΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ
ΤΗΝΔΕ' ΗΓΗΣΑΣΘΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ
ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΡΙΩΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΘ
ΑΙ, ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, ΚΑΙ ΓΕ-
ΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΕΛΥΤΕΡΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΗΚΡΙΜΕΕΙΝ ΑΡΤΕΣ
Ι, ΚΑΙ ΔΙΔΑΣΚΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΖΟΥΣΙ ΜΑ-
ΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΑΣ
ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΡΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ
ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, ΚΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΤΟΙ-
ΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΟΣ, ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΞΥΓΓΕΓΡΑΜΜ
ΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΔΙΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ, ΙΗΤΡΕΩ, ΑΝΩ, ΔΕ Ο
ΥΔΕΝΙ ΜΑΙΗΜΑΤΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΑΝ, ΚΑΜΝΟ-
ΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗΣΕΙ
ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗΝ, ΕΙΡΞΕΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜ
ΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΤΙΜΟΝ, ΟΥΔΕ ΥΦΗΓΗΣ
ΘΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ' ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥΔΕ ΣΥΝ
ΑΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΥΛΩΣ
ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ.
ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΜΟΙΩΝΤΩΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ
ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡΗΞΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΣ ΟΙΚΙΩΣ Δ
Ε ΟΚΟΣΔΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΑΝ,
ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙ
ΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ, ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ
ΕΡΟΣΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔ
ΡΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ. Α Δ' ΑΝ ΕΝ
ΘΕΡΑΠΕΙΑ, Η ΙΔΩ, Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΑ
ΤΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΜΟΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΡΑΛ
ΒΕΣΘΑΙ ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΙΜΕΝΟΣ ΕΙΝ
ΑΙ ΤΑ ΤΟ ΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕ-
ΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΓΛΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘ
ΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑ ΤΟΜΕΜΩ, ΠΑΡΑ ΠΑ-
ΣΙΝ ΑΜΕΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤ
Ι ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΤΙΑ ΤΟΥΤΕ ΩΝ

LENA SEPTEMBER

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

I) Βιογραφικό σημείωμα	5
II) Αντί προλόγου	12
III) Γενικό Μέρος	15
1. Εισαγωγή	16
2. Ορισμός.....	17
3. Επιδημιολογικά δεδομένα.....	19
4. Επιπτώσεις του πρόωρου τοκετού	20
5. Παράγοντες κινδύνου	22
5.1 Ιστορικό πρόωρου τοκετού	23
5.2 Ιστορικό τεχνητής ή αυτόματης εκβολής	24
5.3 Υποβοηθούμενη αναπαραγωγή.....	25
5.4 Πολύδυμη κύηση	25
5.5 Ηλικία της μητέρας.....	26
5.6 Αριθμός κυήσεων.....	27
5.7 Ανωμαλίες της μήτρας	28
5.8 Ανεπάρκεια τραχήλου	29
5.9 Κολπική αιμόρροια.....	29
5.10 Κοινωνική τάξη.....	29
5.11 Εθνικότητα - Φυλή	30
5.12 Οικογενειακή κατάσταση.....	31
5.13 Άγχος.....	32
5.14 Εργασία	34
5.15 Κατανάλωση αλκοόλ.....	35
5.16 Κάπνισμα	35
5.17 Χρήση ναρκωτικών ουσιών.....	36
5.18 Κατανάλωση καφεΐνης	37
5.19 Διατροφή μητέρας.....	37
5.20 Σωματικό βάρος μητέρας.....	38
5.21 Σεξουαλική δραστηριότητα κατά τη διάρκεια της κύησης	39
5.22 Περιβαλλοντικοί παράγοντες.....	39
5.23 Φύλο του εμβρύου	40

5.24 Γονίδια και πρόωρος τοκετός.....	40
6. Λοίμωξη και πρόωρος τοκετός	41
6.1 Βακτηριακή κολπίτιδα	42
6.2 Συστηματικές λοιμώξεις	43
6.3 Ενδομήτριες λοιμώξεις.....	44
7. Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί πρόωρου τοκετού	49
7.1 Stress και πρόωμη ενεργοποίηση του άξονα υποθαλάμου – υπόφυσης – επιεφριδίων του εμβρύου ή της μητέρας	49
7.2 Μητροπλακουντιακή θρόμβωση – αποκόλληση / αιμορραγία πλακούντα	52
7.3 Μηχανικά φαινόμενα – Υπερδιάταση της μήτρας.....	54
7.4 Ενεργοποίηση του καταρράκτη της φλεγμονής.....	54
8. Αγγειοποιητίνη	57
8.1 Αγγειοποιητίνη και παθολογικές καταστάσεις	61
8.2 Αγγειοποιητίνη και κύηση.....	63
IV) Ειδικό Μέρος	67
9. Υλικά & Μέθοδοι	68
10. Αποτελέσματα	76
11. Συζήτηση.....	85
V) Βιβλιογραφικές αναφορές	89
VI) Περίληψη	111

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΕΛΕΥΘΕΡΙΑΣ 48, ΠΕΡΙΣΤΕΡΙ, ΑΘΗΝΑ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΤΗΛΕΦΩΝΟΥ 2105750578 • ΚΙΝΗΤΟ ΤΗΛΕΦΩΝΟ 6932923181
E-MAIL e.polyzou@yahoo.com

ΠΟΛΥΖΟΥ ΗΛΕΚΤΡΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

- Οικογενειακή κατάσταση: Ελεύθερη
- Ημ/νία γέννησης: 18 Ιουνίου 1982

ΣΠΟΥΔΕΣ

- **09/2000-08/2006**

Ιατρική Σχολή Εθν.Καποδιστριακού Παν/μίου Αθηνών
Βαθμός πτυχίου: Λίαν καλώς

- **09/2006-11/2008**

Καθημερινή συμμετοχή στις εργασίες (εξωτερικά ιατρεία, επίσκεψη, χειρουργεία) της Γ'Μαιευτικής & Γυναικολογικής κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου «Αττικόν», συμμετοχή στις λειτουργίες (πειραματικό χειρουργείο, κυτταρομετρία ροής, γνώση τεχνικών καλλιέργειας και απομόνωσης κυττάρων) του εργαστηρίου της Δ' Παθολογικής κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου «Αττικόν»

- **10/2007**

Έναρξη εκπόνησης διδακτορικής διατριβής στη Γ'Μαιευτική & Γυναικολογική κλινική και Δ' Παθολογική Προπαιδευτική κλινική με θέμα: «Αξιολόγηση της επίδρασης ανοσοτροποποιητικής θεραπείας σε πειραματικό μοντέλο φλεγμονής κατά τη διάρκεια της κύησης».

- **09/2012**

Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης στην «Παθολογία της Κύησης», Ιατρική Σχολή Αθηνών, με βαθμό Λίαν Καλώς (8,02).

ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλικά : Certificate of **Proficiency** in English, University of **Cambridge**.

Γαλλικά: Certificat de Langue Française

▪ **09/2006-11/2008**

Καθημερινή συμμετοχή στις εργασίες (εξωτερικά ιατρεία, επίσκεψη, χειρουργεία) της **Γ'Μαιευτικής & Γυναικολογικής** κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου «Αττικών», συμμετοχή στις λειτουργίες του εργαστηρίου λοιμώξεων και αντιμικροβιακής χημειοθεραπείας (πειραματικό χειρουργείο, κυτταρομετρία ροής, γνώση τεχνικών καλλιέργειας και απομόνωσης κυττάρων) της **Δ'Παθολογικής κλινικής** του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου «Αττικών» και εκπόνηση διδακτορικής διατριβής σε συνεργασία της Δ' Παθολογικής κλινικής με τη Γ' Μαιευτική & Γυναικολογική κλινική.

▪ **1/2008-11/2008**

Υπευθυνή ιατρός στο τμήμα Αξονικός – Μαγνήτης στο ιδιωτικό πολυιατρείο «ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΗ» .

▪ **11/2008-8/2009**

Αγροτκός Ιατρός στο Άγρονο Περιφερειακό Ιατρείο Λεονταρίου του Κ.Υ. Σοφάδων Καρδίτσας.

▪ **10/2009-12/2009**

Έμμισθος Επιστημονικός Συνεργάτης την Γ' Μαιευτικής & Γυναικολογικής Κλινικής του ΠΓΝ «ΑΤΤΙΚΟΝ».

▪ **1/2010-10/2010**

Ειδικευόμενη στη Χειρουργική Κλινική του Γενικού Νοσοκομείου Δυτικής Αττικής « Αγία Βαρβάρα».

▪ **11/2010-11/2011**

Υπευθυνή ιατρός στο τμήμα Αξονικός – Μαγνήτης στο ιδιωτικό πολυιατρείο «ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΗ» .

▪ **12/2011 – σήμερα**

Ειδικευόμενη στη Μαιευτική & Γυναικολογική κλινική του Γενικού Νομαρχιακού Νοσοκομείου Χανίων

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. «Gastrointestinal stromal tumor» Stamatakos M., Douzinas E, Stefanaki C, Safioleas P, **Polyzou E**, Levidou G, Safioleas M. World J Surg Oncol 2009; 1:7-61.
2. «Dermatofibrosarcoma: a rare form of soft tissue. Management and review of the literature.» Kontzoglou K, Stamatakos M, Polyzou E, Levidou G, Iannescu R, Safioleas. Chirurgia. 2011;106(5):653-6.
3. «A phase II study of preoperative plus perioperative docetaxel and doxorubicin chemotherapy, surgery, radiotherapy and neoadjuvant hormone therapy in the multidisciplinary treatment of patients with locally advanced and inflammatory breast cancer», Poulakaki F, Evangelinakis N, Makris G, **Polyzou E**, Kouloulis V, Siristatidis C, Pectasides D, Chrelas C. MOJ. 2013;1(3):64-8
4. «Angiopoietin-2 primes infection-induced preterm delivery. **Polyzou EN**, Evangelinakis NE, Pistiki A, Kotsaki A, Siristatidis CS, Chrelas CG, Salamalekis E, Kassanos DP, Giamarellos-Bourboulis EJ. PLoS One. 2014;21:9(1).
5. «Alterations in the cellular component of the maternal immune system in a murine preterm delivery model», Evangelinakis N., **Polyzou E.**, Salamalekis G, Kotsaki A, Chrelas C, Giamarellos-Bourboulis E, Kassanos D. J Matern Fetal Neonatal Med. 2013;26(10):1024-9

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΑ ΠΡΑΚΤΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ (PROCEEDINGS)

1. «Iliofemoral thrombophlebitis at the 6th week of gestation: a case report», Batalias L., Evangelinakis N., **Polizou I.**, Panayiotopoulos D., Kassanos D., *8th World Congress in Perinatal Medicine, Florence, 5-9 September 2007*
2. «Birth of a healthy neonate by a woman with history of acute coronary syndrome (ACS) and infertility», Batalias L, Makridima S, **Polyzou E**, Panagiotopoulos D, Evangelinakis N, Kassanos D, *8th World Congress in Perinatal Medicine, Florence, 5-9 September 2007*

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΕΣ ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ ΔΙΕΘΝΩΝ ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ (SUPPLEMENTS)

1. «Iliofemoral thrombophlebitis at the 6th week of gestation: a case report»,

- Batalias L., Evangelinakis N., **Polizou I.**, Panayiotopoulos D., Kassanos D., *8th World Congress in Perinatal Medicine, Florence, 5-9 September 2007*
J Perinat Med Suppl II, 35:S115, 2007
2. «Birth of a healthy neonate by a woman with history of acute coronary syndrome (acs) and infertility», Batalias L, Makridima S, **Polizou E**, Panagiotopoulos D, Evangelinakis N, Kassanos D., *8th World Congress in Perinatal Medicine, Florence, 5-9 September 2007*
J Perinat Med Suppl II, 35:S115, 2007
 3. «Correlation between ovarian malignancies and moderate and severe endometriosis: a retrospective study», Grammatikakis I, Evangelinakis N, Salamalekis G, **Polizou E**, Chrelias C, Samaras C, Tziortzioti V, Kassanos D., *13th World Congress of Gynecological Endocrinology, Florence, February 28 – March 2, 2008*
 4. «Homozygous β -thalassemia in pregnancy: a case report», Grammatikakis I, Evangelinakis N, Kortesiadis D, Pantatosakis M, **Polizou E**, Chrelias C, *VII Tagung der Deutsch-Griechischen Gesellschaft für Gynecologie und Geburtshilfe, Corfu, June 15-16, 2013*
Arch Gynecol Obstetr Suppl
Gynecol Endocrinol Suppl I, 24: 126, 2008

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. «Κύηση και Καρκίνος του Μαστού», Ευαγγελινάκης Ν., **Πολύζου Η.**, Γραμματικάκης Ι., Κασσάνος Δ., *Ελληνικό Περιοδικό Γυναικολογίας και Μαιευτικής*, 2011, 10(4): 125
2. «Ο ρόλος της λοίμωξης και της φλεγμονώδους απόκρισης της μητέρας στην πρόωρη ρήξη των εμβρυϊκών υμένων: παθοφυσιολογικά δεδομένα», Ευαγγελινάκης Ν., **Πολύζου Η.**, Κασσάνος Δ., *Ελληνικό Περιοδικό Γυναικολογίας και Μαιευτικής*, 2012, 11(3): 107

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

ΠΡΟΦΟΡΙΚΕΣ

1. «Correlation between ovarian malignancies and moderate and severe endometriosis: a retrospective study», Grammatikakis I, Evangelinakis N, Salamalekis G, **Polyzou E**, Chrelias C, Samaras C, Tziortzioti V, Kassanos D., *13th World Congress of Gynecological Endocrinology, 1o Congresso ISGE Italia, Florence, 28 February-2 March 2008*

ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ

1. «Cerchiaggio cervicale d' emergenza», Skarpas P., Loghis C., Evangelinakis N., Salamalekis G., **Polyzou I.**, Tassou A., Kassanos D., *83° Congresso Nazionale SIGO - 48° Congresso Nazionale - AOGOI 15° Congresso Nazionale AGUI, Napoli, 14-17 Ottobre 2007*
2. «TVS and endometrial sampling and thin-prep technique as screening test for endometrial lesions and cancer», A. Koutras, K. Salampasis, N. Evangelinakis, **H. Polyzou**, P. Karakitsos, E. Salamalekis, D. Kassanos, *19th EUROSON congress, Leipzig, Germany, 24-27 Oct 2007*
3. «Embryonal rhabdomyosarcoma (sarcoma botryoides) of the uterine cervix in a 19-years-old woman treated with fertility sparing surgery and adjuvant chemotherapy: a case report », C. Sykiotis, N. Evangelinakis, E. **Polyzou**, E. Hintipas, D. Kassanos, *7th Athens Congress on Women's Health & Disease, Athens, 11-13 September 2008*
4. «The role of maternal immune system in preterm delivery: a murine model», Evangelinakis N., **Polyzou E.**, Salamalekis G., Kotsaki A., Adamis T., Chrelias C., Giamarellos-Bourboulis E., Kassanos D., *13th World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility (COGI), Berlin, 04-07 November 2010*
5. «Homozygous β -thalassemia in pregnancy: a case report», Grammatikakis I, Evangelinakis N, Kortesiadis D, Pantatosakis M, **Polyzou E**, Chrelias C, *VII Tagung der Deutsch-Griechischen Gesellschaft fur Gynecologie und Geburtshilfe, Corfu, June 15-16, 2013*

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

ΠΡΟΦΟΡΙΚΕΣ

1. «Ο σακχαρώδης διαβήτης της κύησης και η επίδρασή του στο περιγεννητικό αποτέλεσμα», **Πολύζου Η**, Λυκάκης Α, Ευαγγελινάκης Ν., Παναγόπουλος Π, Χρέλιας Χ, Κασσάνος Δ, *4^ο Παγκρήτιο Μετεκπαιδευτικό σεμινάριο Μ/Γ, Χανιά, 9 & 10 Απριλίου 2011*
2. «HPV ΛΟΙΜΩΞΗ ΣΕ ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΕΣ ΤΩΝ 35 ΕΤΩΝ» Γ. Στρατουδάκης, **Η. Πολύζου**, Σ. Μπαρμπουνάκη, Σ. Πατραμάνη, Μ. Καλλονιάτου, Μ. Καμπανιέρης, Α. Τσόπελας, Γ. Δασκαλάκης. *Ημερίδα με*

θέμα «HPV λοίμωξη, μια σύγχρονη επιδημία – νεότερα δεδομένα»
Ηράκλειο, 14 Δεκεμβρίου 2013.

3. « ΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΕΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΑΠΟ HPV ΣΤΗΝ ΕΦΗΒΕΙΑ» Γ. Στρατουδάκης, **Η. Πολύζου**, Σ. Μπαρμπουνάκη, Σ. Πατραμάνη, Μ. Καλλονιάτου, Μ. Καμπανιέρης, Α. Τσόπελας, Γ. Δασκαλάκης. *Ημερίδα με θέμα «HPV λοίμωξη, μια σύγχρονη επιδημία – νεότερα δεδομένα»*
Ηράκλειο, 14 Δεκεμβρίου 2013.

ΑΝΑΡΤΗΜΕΝΕΣ

1. «Παρακολούθηση κύησης σε γυναίκα με γνωστή διαταραχή πηκτικότητας», Λ. Μπατάλιας, Ν. Ευαγγελινάκης, **Η. Πολύζου**, Ι. Καζάκος, Δ. Κασσάνος, *2ο Διαπανεπιστημιακό Διανοσοκομειακό Συνέδριο Μαιευτικής Γυναικολογίας με διεθνή συμμετοχή, Ηράκλειο, 5-7 Οκτωβρίου 2007*
2. Σπάνιο περιστατικό γυναίκας με κοιλιοπεριτοναϊκή αναστόμωση – επιτυχής έκβαση κύησης., Λ. Μπατάλιας. Ν. Μπουρνάς, **Η. Πολύζου**, Ν. Ευαγγελινάκης, Δ. Κασσάνος, *2ο Διαπανεπιστημιακό Διανοσοκομειακό Συνέδριο Μαιευτικής Γυναικολογίας με διεθνή συμμετοχή, Ηράκλειο, 5-7 Οκτωβρίου 2007.*
3. «Σπάνιο περιστατικό με εμφάνιση θρομβοφλεβίτιδας των εν τω βάθει αγγείων του κάτω άκρου στην αρχή της κύησης», Λ. Μπατάλιας, Ν. Ευαγγελινάκης, **Η. Πολύζου**, Π. Καρανικολόπουλος, Δ. Κασσάνος, *2ο Διαπανεπιστημιακό Διανοσοκομειακό Συνέδριο Μαιευτικής Γυναικολογίας με διεθνή συμμετοχή, Ηράκλειο, 5-7 Οκτωβρίου 2007*
4. «Παρουσίαση περιστατικού με νόσο Paget του αιδοίου», Ν. Ευαγγελινάκης, Κ. Χαϊδόγιαννος, **Η. Πολύζου**, Π. Καρανικολόπουλος, Κ. Συκιώτης, Ε. Σαλαμαλέκης, *2ο Διαπανεπιστημιακό Διανοσοκομειακό Συνέδριο Μαιευτικής Γυναικολογίας με διεθνή συμμετοχή, Ηράκλειο, 5-7 Οκτωβρίου 2007*
5. «Η αξία της υστεροσκόπησης σε περιπτώσεις παθολογικής κολπικής αιμόρροιας: αναδρομική μελέτη 150 περιστατικών», Γραμματικάκης Ι., Καζάκος Ι., **Πολύζου Η.**, Ευαγγελινάκης Ν., Σαλαμαλέκης Γ., Μπουρνάς Ν., Κασσάνος Δ., *3ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδομητρίωσης & 3ο Συνέδριο Ενδοσκόπησης με διεθνή συμμετοχή, Ηράκλειο, 17-19 Οκτωβρίου 2008*
6. «Συγκριτική μελέτη λαπαροσκόπησης και λαπαροτομής στην αντιμετώπιση των δερμοειδών κύστεων ωοθήκης. Μελέτη 50 περιστατικών», Γραμματικάκης Ι., **Πολύζου Η.**, Ευαγγελινάκης Ν., Σιάσσου Ζ., Σαλαμαλέκης Γ., Μπουρνάς Ν., Κασσάνος Δ., *3ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδομητρίωσης & 3ο Συνέδριο Ενδοσκόπησης με διεθνή συμμετοχή, Ηράκλειο, 17-19 Οκτωβρίου 2008*
7. «Αιμορραγίες πρώτου τριμήνου κύησης και περιγεννητικό αποτέλεσμα»,

Ευαγγελινάκης Ν., Γραμματικάκης Ι., **Πολύζου Η.**, Κρεατσά Μ., Σκάρπας Π., Κασσάνος Δ., *11ο Πανελλήνιο συνέδριο Μαιευτικής & Γυναικολογίας, Αθήνα, 28-31 Μαΐου 2009*

ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΟ ΕΡΓΟ

A. ΠΟΛΥΣΥΓΓΡΑΦΙΚΑ ΒΙΒΛΙΑ

- Συνεργάτης του καθ. Εμ.Σαλαμαλέκη κατά τη συγγραφή του συγγράματος «Παθολογία της κύησης, Τόμος Ι», , Αθήνα, 2008 (σύγγραμμα που διανέμεται στους φοιτητές Ιατρικής)
- Συγγραφή του κεφαλαίου «» στο σύγγραμμα «Παθολογία της κύησης, Τόμος ΙΙ», Εμ.Σαλαμαλέκης, Αθήνα, 2010 (σύγγραμμα που διανέμεται στους φοιτητές Ιατρικής)

ΠΡΟΣΚΕΚΛΗΜΕΝΟΣ ΟΜΙΛΗΤΗΣ

1. Ομιλία με θέμα «Η Διατροφή της Θηλάζουσας μητέρας» στα πλαίσια ημερίδας για το μητρικό θηλασμό. 3 Νοεμβρίου 2012, Χανιά.

ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ

1. «The role of maternal immune system in preterm delivery: a murine model», Evangelinakis N., **Polyzou E.**, Salamalekis G., Kotsaki A., Adamis T., Chrelias C., Giamarellos-Bourboulis E., Kassanos D., *13th World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility (COGI), Berlin, 04-07 November 2010*

ΑΝΤΙ ΠΡΟΛΟΓΟΥ

Ο πρόωρος τοκετός εξακολουθεί να είναι ένα από τα φλέγοντα και πάντα επίκαιρα προβλήματα της σύγχρονης Μαιευτικής. Αποτελεί την κυριότερη αιτία περιγεννητικής θνητότητας και θνησιμότητας τόσο στις αναπτυγμένες, όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες και η συχνότητα εμφάνισής του δεν έχει ελαττωθεί καθόλου τα τελευταία χρόνια, παρά τις δραματικές τεχνολογικές και επιστημονικές εξελίξεις κατά το ίδιο χρονικό διάστημα. Επιπλέον, παρά τις εκτεταμένες ερευνητικές προσπάθειες, δεν έχουμε καταφέρει να αποκρυπτογραφήσουμε πλήρως τα αίτια του πρόωρου τοκετού και η βασική υποκείμενη αιτία παραμένει εν πολλοίς άγνωστη. Εικάζεται πάντως ότι η βασική αιτία του πρόωρου τοκετού αποτελεί τη συνισταμένη της δράσης μίας σειράς γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων, τελικό αποτέλεσμα της οποίας είναι η πρόωρη έξοδος του εμβρύου από τη μήτρα.

Η κοινωνική και οικονομική επίδραση του πρόωρου τοκετού είναι μεγάλη ακόμη και για τις δυτικές κοινωνίες, καθώς πρέπει κανείς να συνυπολογίσει πέρα από τις άμεσες επιπλοκές (νεογνική θνητότητα και νοσηρότητα, νοσηλεία στις μονάδες εντατικής θεραπείας) και τις απώτερες συνέπειες (απώλεια εργατωρών του οικογενειακού περιβάλλοντος σε βάθος χρόνου, αυξημένη επίπτωση σακχαρώδους διαβήτη, αρτηριακής υπέρτασης στην ενήλικη ζωή, διαταραχές στην νευροφυσιολογική ανάπτυξη του προώρου νεογνού, διαταραχές μάθησης). Για τους λόγους αυτούς η ανάγκη μελέτης και διερεύνησης του παθοφυσιολογικού μηχανισμού που εμπλέκεται στην έναρξη του πρόωρου τοκετού κρίνεται απαραίτητη.

Αντικείμενο της παρούσας διδακτορικής διατριβής αποτελεί η μελέτη της επίδρασης ανοσοτροποποιητικής θεραπείας σε πειραματικό μοντέλο φλεγμονής κατά τη διάρκεια της κύησης που οδηγεί σε πρόωρο τοκετό.

Η ανά χείρας διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Λοιμώξεων και Αντιμικροβιακής Χημειοθεραπείας της Δ' Παθολογικής Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών υπό την καθοδήγηση του Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Ε.Ι. Γιαμαρέλλου-Μπουρμπούλη,

σε συνεργασία με τη Γ' Μαιευτική & Γυναικολογική Κλινική της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών υπό τη διεύθυνση αρχικά του Καθηγητή κ. Ε. Σαλαμαλέκη, και εν συνεχεία του Καθηγητή κ. Δ. Κασσάνου.

Θα ήθελα και από τη θέση αυτή να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν στην πραγμάτωση της παρούσας διατριβής και κυρίως την τριμελή επιτροπή που είχε την επίβλεψή της. Ειδικότερα:

Τον Καθηγητή κ. Εμμανουήλ Σαλαμαλέκη για την αμέριστη εμπιστοσύνη που μου έδειξε με την ανάθεση αυτής της ερευνητικής προσπάθειας, καθώς και για την ενθάρρυνση, την ηθική συμπαράσταση και τις πολύτιμες συμβουλές του στη μέχρι τώρα σταδιοδρομία μου.

Τον Καθηγητή κ. Δημήτριο Κασσάνο για τη συμπαράσταση, τις υποδείξεις και το ενδιαφέρον του για την ολοκλήρωση του παρόντος πονήματος.

Τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Ευάγγελο Γιαμαρέλλο-Μπουρμπούλη, του οποίου η συμβολή ήταν καθοριστική στο σχεδιασμό, τη διεξαγωγή, την υλικοτεχνική και ηθική υποστήριξη της παρούσας διατριβής επί διδακτορία.

Και τα τρία μέλη αποτέλεσαν πρότυπο ακαδημαϊκού δασκάλου και για το λόγο αυτό τους ευχαριστώ θερμά.

Θα ήθελα, επίσης, να ευχαριστήσω το συνάδελφό μου Νικόλαο Ευαγγελινάκη για την πολύτιμη συνεργασία του στην πραγματοποίηση του συνόλου των πειραμάτων, καθώς η αντιμετώπιση των ποικίλων δυσκολιών που ανέκυψαν χωρίς την πολύτιμη βοήθειά του θα ήταν ανέφικτη.

Επίσης, ευχαριστώ τους συνεργάτες και συναδέλφους του εργαστηρίου και ιδιαίτερα τους Κωτσάκη Αντιγόνη, Δρογγίτη Διονυσία, Γεωργίτση Μαριάννα και Πιστική Αικατερίνη για την αρωγή τους στην πραγματοποίηση των πειραμάτων και των εργαστηριακών μετρήσεων.

*Στους γονείς μου,
Νικόλαο και Παναγιώτα*

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Εισαγωγή

Ο πρόωρος τοκετός ορίζεται ως ο τοκετός πριν την 37^η εβδομάδα κύησης ή πριν από τις 259 ημέρες κύησης, υπολογιζόμενες από την πρώτη ημέρα της τελευταίας περιόδου της εγκύου, όπως ορίζει ο Π.Ο.Υ (1993). Ο πρόωρος τοκετός αποτελεί ένα παγκόσμιο πρόβλημα, η επίπτωση του οποίου ανέρχεται στο 8-12%. Το ποσοστό των πρόωρων τοκετών είναι, δυστυχώς, διαρκώς αυξανόμενο και στις Η.Π.Α. ανερχόταν στο 12.7% το 2005, από 9,5% που ήταν το 2004 (1).

Ο πρόωρος τοκετός είναι η κυριότερη αιτία περιγεννητικής νεογνικής νοσηρότητας και θνησιμότητας τόσο στις αναπτυγμένες, όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες. Άλλα αίτια νεογνικής θνησιμότητας είναι οι σοβαρές λοιμώξεις, η περιγεννητική ασφυξία και ο νεογνικός τέτανος (2). Ο πρόωρος τοκετός δημιουργεί επιπλοκές σε 6-10% των κύσεων και σε αυτόν αποδίδεται η πλειοψηφία των περιγεννητικών θανάτων. Παρόλο που όλοι οι τοκετοί πριν τις 37 εβδομάδες θεωρούνται πρόωροι, υπεύθυνος για τη νεογνική θνησιμότητα και νοσηρότητα είναι ο πολύ πρόωρος τοκετός, πριν δηλαδή την 32^η εβδομάδα της κύησης. Η περιγεννητική θνησιμότητα και νοσηρότητα συνδέονται αντιστρόφως ανάλογα με την ηλικία κύησης κατά τον τοκετό. Έτσι, τα ποσοστά επιβίωσης για τα νεογνά που γεννιούνται πρόωρα, αλλά μετά την 32^η εβδομάδα της κύησης είναι πλέον παρόμοια με αυτά των τελειόμηνων νεογνών. Τα πιο σοβαρά προβλήματα της προωρότητας αφορούν στο 1-2% των νεογνών που γεννιούνται πριν την 32^η εβδομάδα της κύησης, και κυρίως στο 0,4% που γεννιούνται πριν την 28η εβδομάδα, οπότε και ο κίνδυνος σοβαρής αναπηρίας είναι μεγαλύτερος (1,2).

Η νοσηρότητα περιλαμβάνει το σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας των νεογνών, τη βρογχοπνευμονική δυσπλασία, την ενδοκοιλιακή εγκεφαλική αιμορραγία, τη νεκρωτική εντεροκολίτιδα, τη σήψη, την αμφιβληστροειδοπάθεια (2,3).

Η πρόληψη του πρόωρου τοκετού είναι μια από τις πιο σημαντικές προκλήσεις στη σύγχρονη ιατρική. Πολλά είναι τα αίτια που κατά καιρούς έχουν κατηγορηθεί για πρόωρο τοκετό. Η κοινωνικοοικονομική κατάσταση της

μητέρας, η εθνικότητα, η πολυτοκία, το ιστορικό πρόωρου τοκετού, η υπέρταση της κύησης, ο σακχαρώδης διαβήτης της κύησης και άλλα αίτια αποτελούν επιβαρυντικούς παράγοντες (4,5). Παρά τις εκτεταμένες προσπάθειες που έχουν γίνει για τη μελέτη του πρόωρου τοκετού, η βασική υποκείμενη αιτία παραμένει ανεξερεύνητη, αν και πιστεύεται ότι η αιτία είναι ένα σύμπλοκο που επάγεται από γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες.

Από το σύνολο των αυτόματων πρόωρων τοκετών, ένα σημαντικό ποσοστό (25-40%) σχετίζεται με μικροβιακή λοίμωξη, είτε συστηματική, είτε τοπική, ενώ από αυτές, στο 30% παρατηρείται ανίχνευση κάποιου παθογόνου μικροοργανισμού στο αμνιακό υγρό (6,7). Η πρόοδος της επιστήμης στην ανίχνευση των λοιμώξεων, είτε αυτές είναι ασυμπτωματικές, είτε υποκλινικές, καθώς επίσης και η βελτίωση της μελέτης του τρόπου δράσης των παθογόνων μικροοργανισμών, βοήθησε να κατανοήσουμε το ρόλο των λοιμώξεων στην πρόκληση του πρόωρου τοκετού. Η συσχέτιση του πρόωρου τοκετού με τη λοίμωξη έχει πλέον αποδειχθεί, όμως η απόλυτη σκιαγράφηση του παθοφυσιολογικού μηχανισμού με τον οποίο η φλεγμονή οδηγεί στην έναρξη του πρόωρου τοκετού δεν έχει ακόμη επιτευχθεί. Ο μηχανισμός με τον οποίο η φλεγμονή οδηγεί στην έναρξη του ίδιου φαινομένου που συμβαίνει και επί απουσίας της (μυομητρική δραστηριότητα), καθώς επίσης και η υποψία ότι ο αυτόματος πρόωρος τοκετός είναι το αποτέλεσμα της έναρξης μιας ενδογενούς φλεγμονώδους διαδικασίας είναι ερωτήματα, η απάντηση των οποίων θα οδηγήσει στη μείωση του φαινομένου του πρόωρου τοκετού. Σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η αξιολόγηση της επίδρασης ανοσοτροποποιητικής θεραπείας σε πειραματικό μοντέλο φλεγμονής κατά τη διάρκεια της κύησης.

2. Ορισμός

Ο πρόωρος τοκετός ορίζεται ως ο τοκετός που λαμβάνει χώρα πριν την 37^η εβδομάδα κύησης. Η ηλικία κύησης σύμφωνα με το Αμερικάνικο Κολλέγιο Μαιευτικής και Γυναικολογίας (American College of Obstetricians and Gynecologists – ACOG) ορίζεται σύμφωνα με την ημερομηνία τελευταίας

περιόδου ή με βάση τα υπερηχογραφικά ευρήματα (1,2,3,4). Στην περίπτωση που και τα δύο συμφωνούν (σε κυήσεις μικρότερες των 20 εβδομάδων), η διαφορά είναι δηλαδή μικρότερη των 14 ημερών, χρησιμοποιούμε την πιο συμβατή ηλικία. Στην περίπτωση που η διαφορά μεταξύ αυτών των δύο μετρήσεων είναι μεγαλύτερη των 14 ημερών, βασιζόμαστε στην υπερηχογραφική ηλικία κύησης (1,2,5,6). Σε ορισμένες περιπτώσεις όπου η ηλικία κύησης δεν μπορεί να προσδιοριστεί, ο πρόωρος τοκετός ορίζεται με βάση το βάρος γέννησης του νεογνού. Αντιστοίχως, ο τοκετός ενός νεογνού με σωματικό βάρος μικρότερο των 2500gr θεωρείται πρόωρος (2,7-11).

Ο πρόωρος τοκετός έχει κατηγοριοποιηθεί σύμφωνα με την ηλικία κύησης κατά τον τοκετό (12-15). Έτσι, έχουμε ιδιαίτερα πρόωρο τοκετό πριν την 34^η εβδομάδα κύησης και πολύ πρόωρο τοκετό πριν την 30^η εβδομάδα της κύησης και εξαιρετικά πρόωρο τοκετό πριν την 26^η εβδομάδα της κύησης (16-20). Σύμφωνα με έναν άλλο διαχωρισμό έχουμε πρόωρο τοκετό (26-32 εβδομάδες κύησης), πολύ πρόωρο τοκετό (28-31 εβδομάδες κύησης) και εξαιρετικά πρόωρο πριν την 28^η εβδομάδα κύησης (17-20).

Η έναρξη του πρόωρου τοκετού μπορεί να είναι αυτόματη, οπότε και οι υμένες είναι άρρηκτοι(21, 22). Άλλος μηχανισμός με τον οποίο μπορεί να ξεκινήσει ο πρόωρος τοκετός είναι η πρόωρη ρήξη των υμένων, ανεξάρτητα με το αν ο τοκετός θα ολοκληρωθεί με καισαρική τομή ή με κολπικό τοκετό (23-25). Τέλος, υπάρχει και ο ιατρογενής πρόωρος τοκετός, κατά τον οποίο η κύηση τερματίζεται λόγω ένδειξης που αφορά είτε στη μητέρα, είτε στο νεογνό(26). 30-35% των πρόωρων τοκετών είναι ιατρογενείς. 40-45% έχουν αυτόματη έναρξη και 25-30% των πρόωρων τοκετών έχουν πρόωρη ρήξη των υμένων (27).

Το 2005, στις Η.Π.Α. το ποσοστό των πρόωρων τοκετών ανέρχόταν στο 12,7%, ποσοστό που παρέμεινε σταθερό για την επόμενη πενταετία, μέχρι το 2009, όπου το ποσοστό μειώθηκε κατά τι και άγγιξε το 12,18 %. Στην Ευρώπη, το 2008 το ποσοστό του πρόωρου τοκετού κυμαίνονταν από 5,5% έως 11,1% του συνόλου των ζώντων νεογνών, από 4,3% έως 8,7% για τις μονήρεις κυήσεις και από 42,2% έως 77,8% για τις πολύδυμες κυήσεις. (28).

Από το σύνολο των πρόωρων τοκετών το 50% είναι αποτέλεσμα αυτόματης έναρξης τοκετού με ακέραιους τους υμένες. Η αυτόματη πρόωρη ρήξη των υμένων αποτελεί την αιτία του πρόωρου τοκετού σε ποσοστό 25% του συνόλου των πρόωρων τοκετών, ενώ 25% αυτών, οφείλεται σε παθολογία που οδηγεί σε ιστρογενή πρόωρο τοκετό (υπέρταση της κύησης, IUGR, αποκόλληση πλακούντα κ.ά.) (2,12,16).

3. Επιδημιολογικά δεδομένα

Το ποσοστό του πρόωρου τοκετού έχει παραμείνει σταθερό την προηγούμενη δεκαετία, ενώ, σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, τα τελευταία χρόνια σε ορισμένες χώρες έχει παρατηρηθεί αύξηση του ποσοστού αυτού. (π.χ. στις Η.Π.Α. το ποσοστό ήταν 9,5% το 1981, ενώ το 2005 ήταν 12,7%)(27).

Πολλοί είναι οι λόγοι που μπορούν να δικαιολογήσουν την αύξηση αυτή. Ο βασικότερος λόγος είναι η αύξηση του ποσοστού των πολύδυμων κυήσεων, λαμβάνοντας υπόψη την εφαρμογή θεραπειών υπογονιμότητας, καθώς επίσης και την αύξηση του μέσου όρου ηλικίας τεκνοποίησης της μητέρας (28). Το ποσοστό του πρόωρου τοκετού για τις πολύδυμες κυήσεις είναι 40-60%, σε αντίθεση με 5-10% για τις μονήρεις κυήσεις, όπως έχουμε ήδη αναφέρει. Επιπλέον, η επιβίωση των πολύ πρόωρων νεογνών έχει βελτιωθεί σημαντικά, τις τελευταίες δεκαετίες, λόγω της βελτίωσης της νεογνικής φροντίδας, όπως επίσης και της προγεννητικής (π.χ. χορήγηση κορτικοστεροειδών για την πνευμονική ωριμότητα). Για το λόγο αυτό, η αντίληψη για τον κίνδυνο που σχετίζεται με την προωρότητα, έναντι άλλων μαιευτικών επιπλοκών, έχει αλλάξει. Τέλος, η πρόοδος στην πρόληψη του πρόωρου τοκετού έχει περιοριστεί. Έτσι, το 2006, το Ινστιτούτο Αναφοράς για το πρόωρο τοκετό (Institute of Medicine report on preterm birth) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι προσπάθειες για την πρόληψη του πρόωρου τοκετού ήταν ανεπιτυχείς (28).

Το 2010, 77% του συνόλου της περιγεννητικής θνησιμότητας οφείλονταν σε πρόωρα νεογνά (1,29). Το ποσοστό της θνητότητας ήταν ιδιαίτερα αυξημένο (32%) στα νεογνά που είχαν γεννηθεί με ηλικία κύησης

μικρότερη των 32 εβδομάδων. Επιπλέον, τα μετρίως πρόωρα νεογνά, αυτά δηλαδή που έχουν γεννηθεί μετά την 32^η εβδομάδα κύησης, έχουν 1,3% περιγεννητική θνητότητα, 10 φορές μεγαλύτερη από τα μη πρόωρα νεογνά (1). Παράλληλα, τα νεογνά που γεννήθηκαν πριν την 32^η εβδομάδα της κύησης έχουν αυξημένο ποσοστό κινδύνου για εγκεφαλική παράλυση (5-10%) (1,28). Τα τελευταία 20-30 χρόνια η πρόοδος στην περιγεννητική φροντίδα βελτίωσε την τελική έκβαση σε πολλές περιπτώσεις πρόωρου τοκετού. Ο αριθμός των εβδομάδων κύησης που προσδιορίζει αν ο τοκετός είναι πρόωρος σταδιακά γίνεται όλο και μικρότερος. Το 1992 το κατώτερο όριο ηλικίας κύησης ενός θνησιγενούς νεογνού που θεωρούνταν εμβρυική απώλεια έγινε ακόμη μικρότερο και από 28 εβδομάδες κύησης, ορίστηκε στις 24 (30,31).

Οι κατηγορίες των νεογνών σε σχέση με το βάρος γέννησης είναι:

- Χαμηλό βάρος γέννησης (<2500gr)
- Πολύ χαμηλό βάρος γέννησης (<1500gr)
- Εξαιρετικά χαμηλό βάρος γέννησης (<1000gr)

4. Επιπτώσεις του πρόωρου τοκετού

Οι επιπλοκές του πρόωρου τοκετού είναι πολλές. Το 29% του συνόλου των νεογνικών θανάτων αποδίδεται στον πρόωρο τοκετό, ενώ 1 στους 20 όψιμους νεογνικούς θανάτους (7-27 ημέρες ζωής) και 1 στους 2 βρεφικούς θανάτους (28 ημέρες – 1 έτος ζωής) αποδίδονται στον πρόωρο τοκετό.

Η νεογνική νοσηρότητα σχετίζεται φυσικά με την προωρότητα. Όσο μικρότερο είναι το βάρος γέννησης και η ηλικία κύησης, τόσο μεγαλύτερη είναι και η νεογνική νοσηρότητα.

Τα προβλήματα που παρουσιάζουν τα πρόωρα νεογνά είναι ποικίλα και σχετίζονται σε μεγάλο βαθμό και με το πόσο πρόωρα είναι. Κυριότερα άμεσα προβλήματα είναι τα παρακάτω:

- Αναπνευστικά, κυρίως το Σύνδρομο Αναπνευστικής Δυσχέρειας (Σ.Α.Δ) που οφείλεται σε ανεπάρκεια του επιφανειοδραστικού παράγοντα, της ουσίας που είναι απαραίτητη για την ομαλή λειτουργία των πνευμόνων. Αντιμετωπίζεται με τη χορήγηση οξυγόνου, μηχανική υποστήριξη της αναπνοής του νεογνού με ειδικούς αναπνευστήρες και την εξωγενή χορήγηση επιφανειοδραστικού παράγοντα μετά τον τοκετό.
- Θερμική αστάθεια, για αυτό και τα πρόωρα νεογνά χρειάζονται να παραμείνουν για παραπάνω χρονικό διάστημα σε θερμοκοιτίδα.
- Σιτιστικά προβλήματα, που αντιμετωπίζονται με σίτιση με ειδική τεχνική με καθετήρα ή όταν η σίτιση του νεογνού δεν επιτρέπεται λόγω ιατρικών προβλημάτων, με τη χορήγηση ολικής παρεντερικής διατροφής, ενδοφλεβίως.
- Λοιμώξεις, λόγω ανωριμότητας του ανοσοποιητικού συστήματος των μικρών προώρων νεογνών, που μπορούν να απειλήσουν και την ίδια τη ζωή τους και αντιμετωπίζονται με τη χορήγηση αντιβιοτικών και άλλων ειδικών φαρμάκων που ενισχύουν την άμυνά τους.
- Νεογνικός ίκτερος.
- Άπνοιες λόγω προωρότητας.
- Αναιμία που μπορεί να χρειασθεί μετάγγιση αίματος καθώς και χορήγηση σιδήρου.
- Νευρολογικά προβλήματα, όπως εγκεφαλική αιμορραγία, σπασμούς κ.ά., που ρυθμίζονται ανάλογα και επιβάλλουν τη μακροχρόνια παρακολούθηση του πρόωρου νεογνού για τυχόν ψυχοκινητικά, μαθησιακά και προβλήματα συμπεριφοράς αργότερα.
- Αμφιβληστροειδοπάθεια λόγω προωρότητας, λόγω ανωριμότητας του αμφιβληστροειδούς, κυρίως στα πρόωρα νεογνά με βάρος γέννησης λιγότερο από 1.600 gr, η οποία απαιτεί την πολύ στενή παρακολούθηση από παιδοοφθαλμίατρο και την έγκαιρη θεραπευτική παρέμβαση με ειδική τεχνική με Laser, όταν αυτό κριθεί απαραίτητο.

- Προβλήματα ακοής, που ελέγχονται με screening, με ειδικές ωτο-ακουστικές εκπομπές, πριν την έξοδο του νεογνού από το Τμήμα Προώρων.

Η προωρότητα προδιαθέτει σε αυξημένο κίνδυνο και για χρόνια προβλήματα στο μέλλον. Πτωχή ικανότητα στο διάβασμα, υπερκινητική συμπεριφορά, χαμηλός δείκτης IQ, αδυναμία συγκέντρωσης και έλλειψη προσοχής (27) (πίνακας 2).

Ειδικές φυσικές συνέπειες	Οπτικές διαταραχές Ακουστικές διαταραχές Χρόνια αναπνευστική ανεπάρκεια Καρδιαγγειακή νοσηρότητα
Νευροαναπτυξιακές διαταραχές	Ήπιες διαταραχές εκτελεστικών λειτουργιών Αναπτυξιακή καθυστέρηση Ψυχιατρικές διαταραχές
Κοινωνικές συνέπειες	Επιπτώσεις στις υπηρεσίες υγείας Οικογενειακές διαταραχές

Πίνακας 2. Μακροπρόθεσμες συνέπειες πρόωρου τοκετού

Ο στόχος όλων των προσπαθειών για πρόληψη και θεραπεία του πρόωρου τοκετού είναι να βελτιώσουμε τα ποσοστά επιβίωσης των πρόωρων νεογνών με τις λιγότερες επιπλοκές (27).

5. Παράγοντες κινδύνου

Στις μέρες μας ο πρόωρος τοκετός θεωρείται ως ένα σύνδρομο που οφείλεται σε πολλαπλούς μηχανισμούς, συμπεριλαμβανομένων της λοίμωξης,

της φλεγμονής, της ισχαιμίας της μητροπλακουνταικής μονάδας και άλλων ανοσολογικών διαταραχών.

Στις περισσότερες περιπτώσεις πρόωρου τοκετού, δεν μπορεί να περιγραφεί ένας ακριβής μηχανισμός. Πιστεύεται ότι ένας μεγάλος αριθμός παραγόντων αλληλεπιδρά για να οδηγήσει στη μετάβαση από την ηρεμία της μήτρας στην έναρξη του πρόωρου τοκετού ή της πρόωρης ρήξης των υμένων.

Ο ορισμός των παραγόντων κινδύνου για την πρόληψη του πρόωρου τοκετού είναι πολύ σημαντικός στόχος, καθώς η αναγνώριση των γυναικών που είναι αυξημένου κινδύνου, επιτρέπει την έναρξη ειδικής αγωγής. Παράλληλα, η αναγνώριση των παραγόντων κινδύνου μπορεί να οδηγήσει σε νέα μονοπάτια παθοφυσιολογικών μηχανισμών που οδηγούν, εν τέλει, στον πρόωρο τοκετό. Παρ' όλα αυτά, η υποτιθέμενη υπαιτιότητα των παραγόντων κινδύνου ενίοτε αποτελεί απατηλή προσπάθεια, καθώς σε πολλές περιπτώσεις πρόωρου τοκετού, δεν αναγνωρίζεται κανένας παράγοντας κινδύνου.

Υπάρχουν πολλά χαρακτηριστικά, τόσο μητρικής όσο και εμβρυικής προέλευσης που έχουν συσχετισθεί με τον πρόωρο τοκετό, συμπεριλαμβανομένων δημογραφικών χαρακτηριστικών, θρεπτικών συνηθειών, μαιευτικού ιστορικού, χαρακτηριστικών της παρούσας κύησης, βιολογικών και γενετικών παραγόντων.

5.1 Ιστορικό πρόωρου τοκετού

Το ιστορικό πρόωρου τοκετού είναι, ίσως, ένας από τους πιο ισχυρούς παράγοντες κινδύνου για πρόωρο τοκετό. Δεδομένα από δύο πολυκεντρικές μελέτες (27, 32-34) έχουν αποδείξει ότι η υποτροπή παρουσιάζεται την ίδια περίπου εβδομάδα κύησης που είχε εμφανιστεί και στο παρελθόν σε ποσοστό 5-7% (27, 35-37). Ο κίνδυνος κυμαίνεται από 15% μέχρι και 50%. Παρ' όλα αυτά, γυναίκες με ιστορικό πρόωρου τοκετού έχουν και τοκετούς με φυσιολογική διάρκεια κύησης (38-40).

Επιπλέον, ο κίνδυνος αυξάνει όταν υπάρχει ιστορικό πολλαπλών πρόωρων τοκετών. Μεγάλος αριθμός μελετών έχει δείξει ότι όταν έχει

προηγηθεί ένας πρόωρος τοκετός ο κίνδυνος είναι 14-22%, δύο πρόωροι τοκετοί 28-42% και 67% μετά από τρεις πρόωρους τοκετούς (41, 42).

Η αναφορά στο ιστορικό της γυναίκας πρόωρου τοκετού, την καθιστά άμεσα κύηση αυξημένου κινδύνου. Το γεγονός αυτό μπορεί, βέβαια, να υποδηλώνει κάποια γενετική προδιάθεση, η οποία ακόμη δεν έχει διαπιστωθεί (43,44).

Ο κίνδυνος για πρόωρο τοκετό είναι μεγαλύτερος όταν η παρούσα κύηση είναι αμέσως μετά τον πρόωρο τοκετό και δε έχει μεσολαβήσει τελειόμηνη κύηση (45-47). Οι Mercer και συνεργάτες ανέφεραν ότι οι γυναίκες με ιστορικό πρόωρου τοκετού έχουν 2,5 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο να εμφανίσουν και πάλι πρόωρο τοκετό, ενώ ο κίνδυνος είναι αντιστρόφως ανάλογος με την ηλικία της προηγούμενης κύησης (48, 49). Ο κίνδυνος, όταν το μεσοδιάστημα είναι μικρότερο από 6 μήνες αυξάνει από 30-90% (50,51). Καθώς το μεσοδιάστημα αυξάνει, ο κίνδυνος μειώνεται και έτσι τα μικρότερα ποσοστά εμφανίζονται όταν το μεσοδιάστημα είναι 18-48 μήνες, οπότε και ο κίνδυνος είναι ο μικρότερος (52).

Ο μηχανισμός δεν έχει εξηγηθεί, συχνά όμως η υποκείμενη αίτια που οδηγεί σε πρόωρο τοκετό την πρώτη φορά, επανεμφανίζεται και στην επόμενη κύηση (π.χ. υπέρταση, διαβήτης της κύησης, παχυσαρκία κ.ά.).

5.2 Ιστορικό τεχνητής ή αυτόματης αποβολής

Δεν είναι σαφώς καθορισμένο το αν η τεχνητή αποβολή είναι ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για την τελική έκβαση μίας κύησης. Μια σημαντική ανασκόπηση των μελετών που συσχετίζουν την τεχνητή εκβολή με την έκβαση της επόμενης κύησης παρουσιάζει μικρό, αλλά στατιστικά σημαντικό κίνδυνο εμφάνισης πρόωρου τοκετού (27), ο οποίος αυξάνει ανάλογα με τον αριθμό των διακοπών κύησης που έχουν προηγηθεί.

Ο κίνδυνος μετά από μία αποβολή είναι 1.3, ενώ αυξάνει σε 1.9 όταν ο αριθμός των αποβολών είναι πάνω από δύο (53).

Η αυτόματη αποβολή, κυρίως όταν είναι καθ' ἑξιν, ή η αποβολή δευτέρου τριμήνου, έχει συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό.

Στη Σουηδία μελέτησαν περίπου 600.000 γυναίκες όπου διεπίστωσαν ότι οι γυναίκες με ιστορικό αυτόματης ή τεχνητής αποβολής, είχαν αυξημένο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό, κυρίως πριν την 32^η εβδομάδα της κύησης (54).

5.3 Υποβοηθούμενη αναπαραγωγή

Οι κυήσεις που επιτυγχάνονται με υποβοηθούμενη αναπαραγωγή έχουν αυξημένο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό, καθώς πολλές από αυτές τις κυήσεις είναι πολύδυμες. Οι πολύδυμες κυήσεις με φυσιολογική σύλληψη έχουν μικρότερο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό από αυτές που έγιναν με υποβοηθούμενη μέθοδο (55).

Παρ' όλα αυτά, ο κίνδυνος για πρόωρο τοκετό μετά από υποβοηθούμενη αναπαραγωγή είναι αυξημένος ακόμη και στις μονήρεις κυήσεις. Στις κυήσεις αυτές, ο Helmerhorst και συνεργάτες έδειξαν ότι ο κίνδυνος είναι 3.2 για πολύ πρόωρο τοκετό (<32w), και 2.07 για κύηση μικρότερη τω 37 εβδομάδων (56).

Συμπερασματικά, οι γυναίκες με υπογονιμότητα έχουν αυξημένο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό, και αυτός να είναι ο λόγος που τις οδηγεί και στην υποβοηθούμενη αναπαραγωγή. Αξίζει να αναφέρουμε ότι αυτές οι γυναίκες έχουν κάποιο ανατομικό λόγο που τις καθιστά υπογόνιμες, καθώς επίσης και στα πλαίσια της διερεύνησης της υπογονιμότητας, έχουν υποβληθεί σε κάποιες χειρουργικές επεμβάσεις.

Οι Tough και συνεργάτες το 2002, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η εξωσωματική γονιμοποίηση είναι υπεύθυνη για το 21% όλων των πολύδυμων κυήσεων, καθώς επίσης και για το 66% της αύξησης των πολύ πρόωρων τεκετών (<30 εβδομάδων) (57).

5.4 Πολύδυμη κύηση

Οι πολύδυμες κυήσεις αποτελούν το 2-3% του συνόλου των γεννήσεων. Παρ' όλα αυτά, το 17% των γεννήσεων ηλικίας κύησης μικρότερης των 37 εβδομάδων και το 23% των γεννήσεων κάτω των 32 εβδομάδων είναι δίδυμες κυήσεις (27).

Από το σύνολο των δίδυμων κυήσεων, το 50% θα οδηγηθούν σε πρόωρο τοκετό. Το ποσοστό αυτό έχει αυξηθεί τις τελευταίες δεκαετίες. Το 1988, οι δίδυμες κυήσεις που οδηγήθηκαν σε πρόωρο τοκετό ήταν 42% (58), ενώ το 1997 το ποσοστό αυτό ήταν 48% - 56%. Από το σύνολο των τρίδυμων κυήσεων πάνω από 90% καταλήγουν σε πρόωρο τοκετό (59).

Η ευρεία και ταχεία εξάπλωση της υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και της εξωσωματικής γονιμοποίησης οδήγησε σε μια αύξηση της επίπτωσης των πολύδυμων κυήσεων και αυτή με τη σειρά της σε αύξηση του ποσοστού των πρόωρων τοκετών.

Ο μηχανισμός έναρξης του τοκετού στις πολύδυμες κυήσεις πιθανώς να οφείλεται σε υπερδιάταση της μήτρας, αυξημένο ενδομήτριο όγκο ή σχετικές επιπλοκές, όπως ανεπάρκεια τραχήλου. Επιπλέον, σε ειδικές περιπτώσεις, μπορεί να οφείλεται σε ενδοκρινολογικές διαταραχές, οι οποίες οδήγησαν στην πολλαπλή ωορρηξία και στην πολύδυμη κύηση. Για παράδειγμα, η πολύδυμη κύηση οδηγεί στην αυξημένη παραγωγή οιστρογόνων, προγεστερόνης και άλλων στεροειδών ορμονών, οι οποίες μπορεί να παίζουν σημαντικό ρόλο στην έναρξη του πρόωρου τοκετού. Η ρηλαξίνη, για παράδειγμα, η οποία είναι αυξημένη σε περιπτώσεις πολλαπλής ωορρηξίας, μπορεί να προκαλέσει ανεπάρκεια τραχήλου και κατά συνέπεια πρόωρο τοκετό (27).

5.5 Ηλικία της μητέρας

Πρώτοι οι Federick και Anderson το 1976 συσχέτισαν την ηλικία της μητέρας με την πιθανότητα για πρόωρο τοκετό. Οι γυναίκες σε νεαρή ηλικία (< 20 ετών) έχουν αυξημένο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό. Οι Lumley και συνεργάτες το 1993 ανέφεραν ότι οι γυναίκες ηλικίας μικρότερης των 20 ετών έχουν αυξημένο ποσοστό προωρότητας, αυξανόμενη της σειράς κύησης.

Το 2002, σε μια μελέτη από τους Eliyahu και συνεργάτες, μελέτησαν 17.000 γυναίκες και συσχέτισαν την ηλικία με τον πρόωρο τοκετό. Σε γυναίκες ηλικίας 16-20 ετών, το ποσοστό για πρόωρο τοκετό ήταν 12.5%, σε γυναίκες ηλικίας 21-40 ετών, ήταν 8%, σε γυναίκες 41-45 ετών ήταν 14.2% και, τέλος,

σε γυναίκες μεγαλύτερες των 45 ετών, ο κίνδυνος για πρόωρο τοκετό ήταν 20% (60).

Ο αυξημένος κίνδυνος για πρόωρο τοκετό σε γυναίκες μεγαλύτερης ηλικίας είναι αναμενόμενος, καθώς στο μεγαλύτερο ποσοστό επιπλοκών κατά τη διάρκεια της κύησης συναντάται σε γυναίκες προχωρημένης αναπαραγωγικής ηλικίας. Στις Η.Π.Α. το ποσοστό πρόωρου τοκετού από το 1970, μέσα σε 20 χρόνια, αυξήθηκε κατά 50% στις γυναίκες ηλικίας 40-45 ετών. Το 2000, στις Η.Π.Α. από το σύνολο των πρόωρων τοκετών, το 13,3% παρατηρήθηκε σε γυναίκες ηλικίας 35 ετών (61).

Αντίστοιχα ήταν τα αποτελέσματα και σε μια πιο σύγχρονη μελέτη που έγινε το 2013, στην Ισπανία. Οι Cortes-Castell και συνεργάτες μελέτησαν 78.391 τοκετούς που έγιναν από το 2008 μέχρι και το 2011 και συσχέτισαν την τελική έκβαση με την ηλικία κύησης. Από το σύνολο των τοκετών, οι 5.295 τοκετοί ήταν πρόωροι. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι η προωρότητα στις έφηβες ήταν στατιστικά μεγαλύτερη, με OD 2.41 για τα πολύ πρόωρα νεογνά και 1.71 για τα πρόωρα (62). Αντιστοίχως, στις μητέρες ηλικίας πάνω από 40 ετών, το OD για πολύ πρόωρο τοκετό ήταν 1.96 και για πρόωρο τοκετό ήταν 1.66 (62).

Αντίστοιχα ήταν τα αποτελέσματα και σε μια μελέτη στις Η.Π.Α., το 2014, όπου μελέτησαν 9.350 τοκετούς. Από το σύνολο των τοκετών, 10.9% ήταν πρόωροι. Η συσχέτιση της τελικής έκβασης της κύησης με την ηλικία, ανέδειξε ότι οι έφηβες μητέρες (15-19 ετών) είχαν 4 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό (63). Σε μια άλλη μελέτη, οι Olausson και συνεργάτες διαπίστωσαν ότι οι γυναίκες που είχαν πρόωρο τοκετό κατά τη διάρκεια της εφηβείας τους, σε επόμενη κύηση και ενώ ήταν ενήλικες, ο κίνδυνος για πρόωρο τοκετό ήταν μικρότερος (64).

5.6 Αριθμός κυήσεων

Αν και παλαιότερα ο αριθμός των κυήσεων ήταν επιβαρυντικός παράγοντας για την τελική έκβαση, σήμερα θεωρούμε ότι η πρώτη κύηση σχετίζεται με υψηλότερο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό, ενώ ο κίνδυνος

μειώνεται και ο αριθμός των γεννήσεων δρα προστατευτικά, μέχρι την τέταρτη κύηση. Οι μελέτες μετά την τέταρτη κύηση είναι περιορισμένες (65).

5.7 Ανωμαλίες της μήτρας

Οι συγγενείς ανωμαλίες της μήτρας σχετίζονται με πρόωρο τοκετό της τάξεως του 12-30% (66), ενώ ο μεγαλύτερος κίνδυνος παρουσιάζεται σε γυναίκες με μονόκερο μήτρα (67). Επιπλέον, τα ινομυώματα, κυρίως τα υποβλεννογόνια και τα υποπλακουντιακά σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο πρόωρου τοκετού (68). Ινομυώματα με διάμετρος μεγαλύτερη των 6cm έχουν συσχετισθεί με πρόωρο τοκετό, καθώς μειώνουν τον όγκο της κοιλότητας της μήτρας (69).

5.8 Ανεπάρκεια τραχήλου

Η διάγνωση της ανεπάρκειας του τραχήλου τίθεται κλινικά. Περιγράφεται ως ανώδυνη διαστολή του τραχήλου χωρίς σημαντική δραστηριότητα της μήτρας και αναφέρεται σε ασθενείς με ιστορικό αυτόματων αποβολών δευτέρου τριμήνου ή αυτόματων πρόωρων τοκετών. Συχνά αίτια ανεπάρκειας τραχήλου είναι το ιστορικό χειρουργικής επέμβασης στον τράχηλο (κωνοειδής εκτομή), τραυματισμός τραχήλου (ιστορικό περίδεσης σε προηγούμενη κύηση), ενώ έχει συχνά παρατηρηθεί και σε ασθενείς με παθήσεις του κολλαγόνου.

Η τραχηλική ανεπάρκεια μπορεί να οφείλεται σε πρωτοπαθή αδυναμία του τραχήλου (γεγονός που εξηγεί γιατί οι γυναίκες με ιστορικό αυτόματων πρόωρων τοκετών έχουν αυξημένο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό και σε επόμενη κύηση), σε δευτεροπαθή αδυναμία του τραχήλου, λόγω τραυματισμού του ή ακόμη και σε έκθεση του τραχήλου σε βιοχημικούς παράγοντες που οδηγούν σε βράχυνση και διαστολή αυτού.

5.9 Κολπική αιμόρροια

Η αποκόλληση του πλακούντα εκδηλώνεται ως κολπική αιμόρροια κατά τη διάρκεια του πρώτου και δεύτερου τριμήνου και σχετίζεται με πρόωρη ρήξη των υμένων και πρόωρο τοκετό. Οι γυναίκες με επίμονη κολπική αιμόρροια έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό, σε σχέση με τις γυναίκες οι οποίες είχαν ένα μεμονωμένο επεισόδιο. Κατά τη διάρκεια του τρίτου τριμήνου η αποκόλληση του πλακούντα οδηγεί σε μεγάλη αιμορραγία και συχνά σε πρόωρο τοκετό. Σε μελέτη που έγινε το 2013 από τους Hosseini και συνεργάτες μελέτησαν την τελική έκβαση σε κύσεις που είχαν κολπική αιμόρροια κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου. Διαπιστώθηκε ότι στην ομάδα των γυναικών με κολπική αιμόρροια στο πρώτο τρίμηνο της κύησης το ποσοστό πρόωρου τοκετού, με πρόωρη ρήξη των υμένων ήταν 27,1%, σε σχέση με 3.6% στην ομάδα ελέγχου (70).

Σε άλλη μελέτη το 2013, από τους Behrendt και συνεργάτες μελετήθηκε η συσχέτιση της κολπικής αιμόρροιας με τον πρόωρο τοκετό και ο πιθανός μηχανισμός που επάγει τη διαδικασία της έναρξης του τοκετού. Οι γυναίκες οι οποίες είχαν κολπική αιμόρροια κατά τη διάρκεια της κύησης είχαν μεγαλύτερο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό, η έναρξη του οποίου, όμως, επάγεται με διαφορετικό μηχανισμό από τη συνεχή βράχυνση του τραχήλου (71).

5.10 Κοινωνική τάξη

Στις μέρες μας ο πρόωρος τοκετός αποτελεί μια κοινωνική νόσο, καθώς η κοινωνική τάξη της μητέρας επηρεάζει, ενίοτε την τελική έκβαση της κύησης. Η κοινωνική τάξη της μητέρας αποτελεί έναν αυτόνομο παράγοντα κινδύνου για την τελική έκβαση μιας κύησης, καθώς είναι ανεξάρτητη από την ηλικία της μητέρας, τον αριθμό των τοκετών, ακόμη και την κοινωνική τάξη του πατέρα. Ο τρόπος με τον οποίο η κοινωνική τάξη της μητέρας επηρεάζει την τελική έκβαση της κύησης δεν έχει ακόμη διαπιστωθεί, παρ' όλα αυτά, οι μητέρες αυτές δεν τηρούν τις τακτικές τους επισκέψεις στον ιατρό, ενώ συχνά συνυπάρχουν και άλλοι παράγοντες κινδύνου, όπως το κάπνισμα, η κακή διατροφή και η κατάχρηση χημικών ουσιών. Σε μια μελέτη των Foster κι

συνεργατών, το 2000, μελετήθηκαν τα ποσοστά των πρόωρων τοκετών, σε σχέση με το κοινωνικο-οικονομικό επίπεδο τριών συνεχόμενων γενεών στις Η.Π.Α. Το ποσοστό των νεογνών της τρίτης γενιάς με χαμηλό βάρος γέννησης ήταν 6,9%, σαφώς μικρότερο από αυτό της δεύτερης γενιάς, που ήταν 11,4%. (72) και η οποία είχε εμφανώς χαμηλότερο κοινωνικο-οικονομικό επίπεδο. Αντίστοιχα είναι τα αποτελέσματα σε μελέτες που έγιναν από το 1980 μέχρι το 2000 στη Ρωσία, όπου διαπιστώθηκε ότι η βελτίωση της κοινωνικής κατάστασης της μητέρας, οδηγεί σε μείωση του ποσοστού νεογνών χαμηλού βάρους γέννησης. (72). Επιφανειακά προσεγγίζοντας το θέμα, θα λέγαμε ότι η κοινωνική τάξη είναι ανέφικτο να απομακρυνθεί ως παράγοντας κινδύνου του πρόωρου τοκετού. Μια τέτοια προσέγγιση, όμως, θα ήταν λανθασμένη, καθώς, ως παράγοντας καθαρά μεταβλητός, θα πρέπει να μελετηθεί αναλυτικά, ώστε να εντοπιστούν τα στοιχεία εκείνα στα οποία είναι πεφικτή η προληπτική παρέμβαση.

5.11 Εθνικότητα - Φυλή

Η φυλή αποτελεί έναν από σημαντικούς παράγοντας που επηρεάζει την τελική έκβαση της κύησης. Από το 1977 ήδη, οι Garn και συνεργάτες είχαν διαπιστώσει ότι οι γυναίκες της μαύρης φυλής έχουν εννέα ημέρες μικρότερη κύησης και ότι παρουσιάζουν διπλάσιο ποσοστό εμφάνισης πρόωρου τοκετού (73-76).

Η μαύρη φυλή, λοιπόν, θεωρείται ότι διατρέχει αυξημένο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό, καθώς οι λευκές γυναίκες έχουν κίνδυνο 5-9% για πρόωρο τοκετό, σε αντίθεση με γυναίκες από τη μαύρη φυλή που έχουν ποσοστό πρόωρου τοκετού 16-18% (27, 77-79). Επιπλέον, οι γυναίκες της μαύρης φυλής έχουν 3 με 4 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο να έχουν έναν πολύ πρόωρο τοκετό σε σχέση με γυναίκες άλλων φυλών. Σε αυτό το λόγο μπορεί να αποδοθεί και μέρος της ασυμφωνίας των επιδημιολογικών δεδομένων μεταξύ της Ευρώπης και των Η.Π.Α., καθώς παρατηρείται αυξημένη παρουσία της μαύρης φυλής στις Η.Π.Α. Η διαφορά αυτή, μεταξύ των δύο φυλών παραμένει σταθερή. Οι γυναίκες από την Ανατολική Ασία έχουν χαμηλό ποσοστό πρόωρου τοκετού. Οι γυναίκες από τη Νότια Ασία, συμπεριλαμβανομένων

των Ινδιάνων, έχουν αυξημένο ποσοστό νεογνών χαμηλού βάρους, αν και το ποσοστό του πρόωρου τοκετού δε φαίνεται να είναι αυξημένο (27, 80, 81) . Παρ' όλα αυτά, είναι δύσκολο να διαχωριστούν σαφώς τα αίτια και οι παράγοντες κινδύνου σε αυτές τις φυλετικές ομάδες, καθώς χαρακτηριστικό γνώρισμα αυτών είναι η έλλειψη ιατρικής περίθαλψης και το χαμηλό κοινωνικο-οικονομικό επίπεδο, γεγονός που μπορεί να επηρεάζει το περιγεννητικό αποτέλεσμα.

Επιπλέον, τα τελευταία χρόνια η διαφορετική επίπτωση του πρόωρου τοκετού, αλλά και άλλων νοσημάτων ανάμεσα στις φυλές αποδίδεται σε γονιδιακές διαφορές. Σύμφωνα, λοιπόν, με τα σύγχρονα βιβλιογραφικά δεδομένα, κάποιες παραλλαγές του εμβρυϊκού γονιδιώματος (πολυμορφισμός) ευθύνονται για τη συχνότερη εμφάνιση του πρόωρου τοκετού σε κάποιες φυλετικές ομάδες. Ειδικότερα, διεπιστώθη ότι έμβρυα που φέρουν ορισμένα αλληλόμορφα γονίδια της ιντερλευκίνης-1 (IL-1) εμφανίζουν συχνότερα πρόωρο τοκετό, ενώ ακόμη και ο τρόπος με τον οποίο οι εμβρυϊκοί υμένες αντιδρούν στα φλεγμονώδη ερεθίσματα είναι διαφορετικός, καθώς οφείλεται σε γονιδιακές διαφορές των φυλών. (82). Παρ' όλα αυτά, οι Lumley και συνεργάτες το 1997, μελετώντας όλες τις γυναίκες που γέννησαν στην Αυστραλία, παρατήρησαν ότι το ποσοστό προωρότητας δεν ήταν διαφορετικό μεταξύ διαφόρων εθνικότητων, ίσως γιατί η ιατρο-φαρμακευτική προσέγγιση ήταν ίδια σε όλα τα κοινωνικά στρώματα. Καθώς οι παράγοντες κινδύνου ανάμεσα στις διάφορες φυλετικές ομάδες είναι διαφορετικοί, θα πρέπει να πραγματοποιηθούν κι άλλες μελέτες ώστε να διαμορφωθούν τα ποσοστά του πρόωρου τοκετού ανάμεσα στις διάφορες φυλετικές ομάδες.

5.12 Οικογενειακή Κατάσταση

Η συσχέτιση της οικογενειακής κατάστασης με τον πρόωρο τοκετό, διαφέρει ανάλογα με την ηλικία της μητέρας. Παρ' όλα αυτά, δεν έχει πιστοποιηθεί αν η οικογενειακή κατάσταση αποτελεί αυτόνομο παράγοντα κινδύνου ή σχετίζεται με το ψυχολογικό υπόβαθρο και τα προβλήματα που συνοδεύουν τη μητέρα. Σε μια μελέτη από τους Zeitlin και τους συνεργάτες διεπιστώθη ότι στις χώρες όπου ο το ποσοστό των ανύπαντρων μητέρων

είναι χαμηλό, το ποσοστό του πρόωρου τοκετού σε αυτές είναι υψηλότερο. Επιπλέον, έχει διαπιστωθεί ότι στις ανύπαντρες μητέρες που είχαν πρόωρο τοκετό στην πρώτη κύηση και παντρεύτηκαν κατά τη διάρκεια της δεύτερης κύησης, το ποσοστό του πρόωρου τοκετού μειώθηκε.

Οι ανεπιθύμητες κύησεις είναι συχνά η αιτία γέννησης νεογνών χαμηλού βάρους. Το 1977 σε μια μελέτη από τους Zelnik υπολογίστηκε ότι αν οι μητέρες που είχαν ανεπιθύμητη κύησης είχαν λάβει αντισυλληπτικά μέτρα, ο αριθμός των πρόωρων τοκετών θα είχε μειωθεί. Παράλληλα, στη Φιλανδία διεπιστώθηκε ότι οι μαιευτικές επιπλοκές στις ανύπαντρες μητέρες είναι κατά 20% συχνότερες.

Παρ' όλα αυτά, τα τελευταία δεδομένα διαπιστώνεται μείωση της επίδρασης της οικογενειακής κατάστασης στην τελική έκβαση της κύησης. Τα δεδομένα συγκλίνουν υπέρ της άποψης ότι στις ανεπτυγμένες χώρες, όπου η απλή συμβίωση και οι άγαμες μητέρες είναι πιο συχνό φαινόμενο, το ποσοστό των πρόωρων τοκετών είναι πλέον, μικρότερο.

5.13 Άγχος

Κατά τη διάρκεια του προηγούμενου αιώνα υπήρχε η άποψη ότι τα συναισθήματα της μητέρας και τα στρεσογόνα ερεθίσματα μπορεί να προκαλέσουν βλάβη στο έμβρυο. Η άποψη αυτή, βέβαια, δεν ευσταθεί και έπαψε πια να αναφέρεται. Το κέντρο μελέτης, στις μέρες μας, είναι το άγχος και κατά πόσο αυτό μπορεί να επηρεάσει την τελική έκβαση της κύησης. Ο ρόλος του, δεν έχει πλήρως διευκρινισθεί, υπάρχει όμως η άποψη ότι το άγχος αυξάνει τον κίνδυνο για πρόωρο τοκετό. Το ενδιαφέρον στράφηκε προς αυτόν τον παράγοντα, καθώς περιγράφηκαν νευρο-ενδοκρινολογικοί μηχανισμοί με τους οποίους οι μεταβολές που γίνονται στη μητέρα, μπορούν να τροποποιήσουν το εμβρυικό περιβάλλον (83).

Η συσχέτιση του stress με τον πρόωρο τοκετό ξεκίνησε από το 1977, όπου οι Lederman και συνεργάτες μελέτησαν την ενδογενή έκκριση της επινεφρίνης, η οποία θα μπορούσε να επηρεάσει τη συσταλτικότητα της μήτρας. Η έρευνα, βέβαια, απέδειξε ότι τα αυξημένα επίπεδα επινεφρίνης οδηγούσαν σε μειωμένη συσταλτική δραστηριότητα της μήτρας (84, 85).

Το 1993 οι Hedegaard και συνεργάτες εξέτασαν 8.719 γυναίκες όπου διεπιστώθη ότι οι γυναίκες που είχαν αυξημένα επίπεδα ψυχολογικού stress κατά τη διάρκεια του τρίτου τριμήνου είχαν αυξημένο ποσοστό πρόωρου τοκετού. (83,86). Βέβαια, η ανάλυση των δεδομένων είναι πολύ σύνθετη, καθώς είναι δύσκολο να ορίσει κανείς και να μετρήσει το stress, καθώς επίσης και να διαχωρίσει το χρόνιο από το οξύ stress.

Παρ' όλα αυτά, υπάρχουν ενδείξεις ότι το μητρικό stress ενεργοποιεί κύτταρα του πλακούντα και των εμβρυικών υμένων και παράγουν CRH. Η CRH με τη σειρά της κινητοποιεί την παραγωγή τοπικών προσταγλανδινών, οι οποίες επάγουν την έναρξη των συστολών (87, 88).

Μια άλλη θεωρία για τον παθοφυσιολογικό μηχανισμό με τον οποίο το άγχος επιδρά την πορεία της κύησης είναι η παραγωγή προσταγλανδινών που είτε επάγουν άμεσα την έναρξη του πρόωρου τοκετού, είτε αυξάνουν την προδιάθεση για λοιμώξεις και έμμεσα αυξάνουν τον κίνδυνο για πρόωρο τοκετό. Τέλος, σε πολλές μελέτες έχει συνδιαστεί το άγχος με άλλες συνήθειες στις έγκυες όπως κάπνισμα, κατανάλωση αλκοόλ και λοιπών χημικών ουσιών, ο συνδυασμών των οποίων με το άγχος αυξάνει ακόμη περισσότερο τον κίνδυνο για πρόωρο τοκετό.

Οι Wedha και συνεργάτες μελέτησαν το μονοπάτι μέσω του οποίου το stress αυξάνει τον κίνδυνο για πρόωρο τοκετό και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι γίνεται είτε μέσω της νευροενδοκρινικής οδού (ενεργοποίηση μητρο-πλακουντιακού-εμβρυικού συστήματος), είτε μέσω ανοσοποιητικής οδού(80, 83, 86). Φυσικά, δεν οδηγούνται όλες οι έγκυες που έχουν άγχος σε πρόωρο τοκετό. Το τρίμηνο στο οποίο εκδηλώνεται το άγχος, η φύση του ερεθίσματος και η διάρκειά του είναι βασικοί παράγοντες.

Αν και πολλές μελέτες έχουν αντικρουόμενα δεδομένα, το άγχος επιδρά στην τελική έκβαση της κύησης και θα πρέπει να γίνονται προσπάθειες για περιορισμό των στρεσογόνων ερεθισμάτων κατά τη διάρκεια της κύησης.

5.14 Εργασία

Η συσχέτιση της μητρικής εργασίας και του πρόωρου τοκετού, στη διεθνή βιβλιογραφία, είναι αντικρουόμενη, καθώς υπάρχουν πολλές μεταβλητές, όπως η ηλικία της μητέρας, η κοινωνική τάξη, η φυσική κατάσταση κ.ά. Σε κάθε περίπτωση υπάρχει κάποια συσχέτιση της βαριάς φυσικής άσκησης και του πρόωρου τοκετού.

Από το 1934, οι Debre και συνεργάτες συσχέτισαν τη φυσική άσκηση και την ήπια μυομητρική δραστηριότητα με την έναρξη του πρόωρου τοκετού, ενώ πρώτος ο Raiha το 1959, συνέστησε ανάπαυση και περιορισμό της φυσικής δραστηριότητας, ως βασική μέθοδο πρόληψης του πρόωρου τοκετού. Το 1969, ο Pariernik και συνεργάτες παρατήρησαν ότι η αυξημένη κινητικότητα στο σπίτι και η έντονη σωματική προσπάθεια στην εργασία παρατηρούνταν πιο συχνά στις γυναίκες που είχαν τελικά πρόωρο τοκετό, ενώ η άρση βάρους και η εργασία σε μηχανές αυξάνει τον κίνδυνο για πρόωρο τοκετό (προωρότητα). Το 1984 οι Mamelle και συνεργάτες αναγνώρισαν ισχυρή συσχέτιση του πρόωρου τοκετού με έντονη κουραστική αναγνώριση, γεγονός που αργότερα επιβεβαιώθηκε με πολλές μετα-αναλύσεις. Σε 2 μετα-αναλύσεις 1990 και το 2000 αντίστοιχα (89, 90) διαπιστώθηκε ότι η αυξημένη σωματική εργασία σχετίζεται με αυξημένα ποσοστά πρόωρου τοκετού. Οι γυναίκες που χειρίζονται βαριά μηχανήματα, που εργάζονται ως καθαρίστριες ή στην κλωστοϋφαντουργία έχουν αυξημένο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό. Το 2004 οι Saurel-Cubizolles και συνεργάτες παρατήρησαν ότι γυναίκες που εργάζονται περισσότερο από 42 ώρες την εβδομάδα και η εργασία τους απαιτούσε ορθοστασία πάνω από 6 ώρες την ημέρα, καθώς επίσης και γυναίκες που είχαν χαμηλή ικανοποίηση από την εργασία τους είχαν αυξημένο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό (91)

Συμπερασματικά, οι γυναίκες που εργάζονται είναι ψυχικά και σωματικά πιο υγιείς, σε σχέση με τις άνεργες μητέρες, αλλά στις περιπτώσεις που η εργασία τους απαιτεί πολλές ώρες ορθοστασίας, βαριά σωματική άσκηση ή χειρισμό βαρέων μηχανημάτων ο κίνδυνος για πρόωρο τοκετό αυξάνει.

5.15 Κατανάλωση αλκοόλ

Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχουν ουσιαστικές διαφωνίες ως προς την επίδραση του αλκοόλ στον πρόωρο τοκετό. Στη μελέτη αυτή υπάρχουν πολλές αντικειμενικές δυσκολίες, όπως, η μονάδα μέτρησης κατανάλωσης του αλκοόλ, που διαφέρει από ασθενή σε ασθενή. Παρ'όλα αυτά, οι Rosset και συνεργάτες, από το 1978, παρατήρησαν ότι υπάρχει ισχυρή συσχέτιση του πρόωρου τοκετού με τη μεγάλη κατανάλωση αλκοόλ (92). Το 1982 οι Berkowitz και συνεργάτες διεπίστωσαν ότι ο κίνδυνος για πρόωρο τοκετό σε γυναίκες που κατανάλωναν 2 ή και περισσότερα ποτά την ημέρα, τριπλασιάζονταν. Δέκα χρόνια μετά, το 1992, οι McDonald και συνεργάτες παρατήρησαν αύξηση του κινδύνου για πρόωρο τοκετό, όταν η κατανάλωση του αλκοόλ ήταν 10-14 μονάδες εβδομαδιαίως (91,92).

Μέχρι το 2000 οι μελέτες που είχαν γίνει για τη συσχέτιση του αλκοόλ με τον πρόωρο τοκετό είχαν μικρό δείγμα γυναικών.

Το 2004, σε μια πιο σύγχρονη μελέτη, οι Albertsen και συνεργάτες μελέτησαν μεγάλο αριθμό γυναικών, 40.000 και διαπίστωσαν ότι όταν η κατανάλωση του αλκοόλ είναι πάνω από 7 ποτά εβδομαδιαίως, παρατηρείται σχετική αύξηση του κινδύνου για πολύ πρόωρο τοκετό (<32 εβδομάδες κύησης), ενώ γυναίκες που κατανάλωναν λιγότερο από 4 ποτά εβδομαδιαίως, δεν είχαν αυξημένο κίνδυνο. Η μικρή κατανάλωση αλκοόλ, δεν επηρεάζει την τελική έκβαση της κύησης (93).

5.16 Κάπνισμα

Το κάπνισμα σχετίζεται άμεσα με τον πρόωρο τοκετό, καθώς επίσης και με τη ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης του εμβρύου. Από το 1976 οι Meyer και συνεργάτες (94) παρατήρησαν αύξηση των πολύ πρόωρων τοκετών μεταξύ 24-34 εβδομάδων κύησης σε καπνίστριες. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι ο κίνδυνος ήταν ανάλογος του συνόλου των τσιγάρων, με πολύ μεγάλη διαφορά όταν η γυναίκα κατανάλωνε πάνω από 20 τσιγάρα ημερησίως (94).

Το κάπνισμα και η δόσοεξαρτώμενη συσχέτισή του με τον πρόωρο τοκετό έχει επιβεβαιωθεί σε πολλές μελέτες, στη διεθνή βιβλιογραφία (22, 95,

96). Η καθημερινή κατανάλωση από τη μητέρα από ένα έως εννέα τσιγάρα ημερησίως έχει αυξημένο σχετικό κίνδυνο για πρόωρο τοκετό από 33 έως 36 εβδομάδες (OR 1.1) (97,98), ενώ ο σχετικός κίνδυνος για πρόωρο τοκετό πριν την 32^η εβδομάδα κύησης είναι 1.3 (99). Αντίστοιχα είναι και τα αποτελέσματα σε μια άλλη μελέτη, όπου οι Gardosi και συνεργάτες το 2000, διαπίστωσαν ότι υπάρχει μια δόσοεξαρτώμενη σχέση μεταξύ του καμπνίσματος και του πρόωρου τοκετού. Σε αυτήν τη μελέτη ο κίνδυνος για πρόωρο τοκετό πριν την 32^η εβδομάδα είναι 1.6-1.8 φορές αυξημένος, ενώ 1.4 για κυήσεις 33-36 εβδομάδων (100).

Το κάπνισμα εκτός από το γεγονός ότι σχετίζεται με πρόωρο τοκετό, επιδρά και στην αύξηση του βάρους του εμβρύου και αυξάνει τον κίνδυνο αυτόματης αποβολής, θνησιγενούς εμβρύου και νεογνικού θανάτου (22).

Αυξημένος είναι ο κίνδυνος για πρόωρο τοκετό και στην περίπτωση του παθητικού καπνίσματος. Το 2008 οι Jaddoe και συνεργάτες μελέτησαν τη σχέση του παθητικού καπνίσματος με τον πρόωρο τοκετό, όπου διεπίστωσαν ότι υπάρχει αυξημένος κίνδυνος για πρόωρο τοκετό στις γυναίκες που εκτίθενται σε παθητικό κάπνισμα, ενώ ο κίνδυνος αυξάνει καθώς αυξάνει ο αριθμός των ατόμων που καπνίζουν στο χώρο αυτό (100, 101). Τέλος, το 2009, οι McCowen και συνεργάτες διαπίστωσαν ότι οι γυναίκες οι οποίες σταματούν το κάπνισμα πριν την 15^η εβδομάδα της κύησης, έχουν τον ίδιο κίνδυνο πρόωρου τοκετού με τις γυναίκες που δεν καπνίζουν, δείχνοντας με αυτό ότι η επιβλαβής επίδραση του καπνού στην κύηση έχει αντιστρεπτά αποτελέσματα (102). Η διακοπή του καπνίσματος κατά τη διάρκεια της κύησης θα πρέπει να ενθαρρύνεται, καθώς η αρνητική επίδραση του καπνού τόσο στο έμβρυο, όσο και στην τελική έκβαση της κύησης είναι αποδεδειγμένη, ενώ κάποιες από τις επιβλαβείς δράσεις του καπνού, μπορεί να αντιστραφούν.

5.17 Χρήση ναρκωτικών ουσιών

Η χρήση ναρκωτικών ουσιών είναι η μάστιγα της σύγχρονης κοινωνίας. Η επίπτωση της χρήσης των ναρκωτικών αυξάνει συνεχώς, ενώ

90% του συνόλου των γυναικών που είναι χρήστριες βρίσκονται σε αναπαραγωγική ηλικία.

Η χρήση και ο εθισμός της μητέρας σε ναρκωτικές ουσίες αυξάνει τον κίνδυνο για πρόωρο τοκετό, είναι όμως δύσκολο να διαχωριστεί ο απόλυτος κίνδυνος, καθώς συνυπάρχουν και άλλοι παράγοντες σε αυτήν την κατηγορία γυναικών, όπως η έλλειψη εμβρυικής φροντίδας, οι κακές συνθήκες υγιεινής, το χαμηλό κοινωνικο-οικονομικό περιβάλλον και η φτωχή διατροφή.

Περίπου 25% των γυναικών που κάνουν χρήση ναρκωτικών ουσιών θα έχουν πρόωρο τοκετό (103, 104), ενώ οι γυναίκες με θετικό τεστ ούρων για χρήση κοκαΐνης έχουν 37% μεγαλύτερο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό (22). Η κοκαΐνη είναι η πιο κοινή ναρκωτική ουσία, ενώ αναγνωρίζεται σε ποσοστό 60% του συνόλου των γυναικών που κάνουν χρήση ναρκωτικών ουσιών και έχουν πρόωρο τοκετό (22). Ο τρόπος με τον οποίο η κοκαΐνη οδηγεί στον πρόωρο τοκετό δεν είναι γνωστός, πιθανότατα, όμως, να οφείλεται στην αύξηση των κυκλοφορούντων κατεχολαμινών στο αίμα της μητέρας, καθώς επίσης και στην αυξημένη πιθανότητα αποκόλλησης του πλακούντα και αιμορραγίας κατά τη διάρκεια της κύησης (105-108).

5.18 Κατανάλωση καφεΐνης

Η συσχέτιση της κατανάλωσης του καφέ με τον πρόωρο τοκετό δεν είναι πιστοποιημένη. Σε παλαιότερες μελέτες υπήρχε μια συσχέτιση της κατανάλωσης καφεΐνης με τον πρόωρο τοκετό, γεγονός που δεν επιβεβαιώθηκε στις ακόλουθες μελέτες. Σε πιο πρόσφατες μελέτες, οι Bech και συνεργάτες δε διαπίστωσαν επίδραση της κατανάλωσης καφεΐνης στην τελική έκβαση της κύησης, αλλά ούτε και στο τελικό βάρος γέννησης του νεογνού (109).

5.19 Διατροφή της μητέρας

Η διατροφή της μητέρας δεν έχει αποδειχθεί ότι είναι παράγοντας που επηρεάζει τη διάρκεια της κύησης και την τελική έκβαση του τοκετού. Σε μια μελέτη των Norman και συνεργατών (51) δε διεπιστώθη αλλαγή της τελικής

έκβασης της κύησης σε περιπτώσεις όπου κατά τη διάρκεια αυτής άλλακαν οι διατροφικές συνήθειες της εγκύου. Παρ'όλα αυτά, σε μια μελέτη στην Κίνα το 2002 από τους Ronnenberg και συνεργάτες διεπιστώθη ότι τα χαμηλά επίπεδα βιταμινών B6 και B12 αυξάνουν ελαφρώς τον κίνδυνο για πρόωρο τοκετό, ενώ τα επίπεδα του φυλλικού οξέος δεν επηρεάζουν (110). Επιπλέον, στην ίδια μελέτη, διεπιστώθη ότι η διατροφή πλούσια σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (ωμέγα-3) μπορεί να αυξήσει τη διάρκεια της κύησης κατά 3-7 ημέρες και να προλάβει τον πρόωρο τοκετό (110). Σε μια άλλη μελέτη το 2002, οι Olsen και συνεργάτες διαπίστωσαν ότι η χαμηλή κατανάλωση λιπαρών οξέων (θαλασσινά – ιχθυέλαια) οδηγεί σε αυξημένο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό 3,6 φορές, συμπεραίνοντας ότι η κατανάλωση ψαριών ασκεί προστατευτική δράση έναντι του πρόωρου τοκετού (111). Σε μεταγενέστερες, βέβαια, μελέτες όλα αυτά τα δεδομένα δεν έχουν επιβεβαιωθεί (112).

5.20 Σωματικό βάρος μητέρας

Το χαμηλό σωματικό βάρος της μητέρας κατά τη διάρκεια της κύησης, καθώς και η χαμηλή πρόσληψη βάρους σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό. Σε μελέτες έχει αποδειχθεί ότι όταν ο δείκτης μάζας σώματος της γυναίκας κατά την έναρξη της κύησης είναι μικρότερος από 19.8 kg/m^2 , ο κίνδυνος για πρόωρο τοκετό διπλασιάζεται (113, 114). Επιπλέον, σε περιπτώσεις που η αύξηση του σωματικού βάρους κατά τη διάρκεια του τρίτου τριμήνου είναι ανεπαρκής ($<0,3 \text{ kg/εβδομάδα}$) ο κίνδυνος για πρόωρο τοκετό είναι και πάλι διπλάσιος (115). Στην ίδια μελέτη υπολογίστηκε η μέγιστη και η ελάχιστη εβδομαδιαία πρόσληψη βάρους, η οποία ήταν $0,52 \text{ kg/εβδομάδα}$ και $0,27 \text{ kg/εβδομάδα}$. Πρόσληψη βάρους εκτός των ορίων αυτών επηρεάζει τον κίνδυνο για πρόωρο τοκετό (116). Η ανεπαρκής πρόσληψη βάρους, κυρίως κατά το τρίτο τρίμηνο της κύησης, μπορεί να σχετίζεται και με άλλους παράγοντες, όπως αυξημένο άγχος ή κατάθλιψη, με αποτέλεσμα ο κίνδυνος για πρόωρο τοκετό να αυξάνει ακόμη περισσότερο. Τέλος, αξίζει να ανφέρουμε ότι αν και η μητρική παχυσαρκία δε σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό, όταν το αρχικό βάρος έναρξης της μητέρας είναι πάνω από 75 κιλά, ο κίνδυνος για ιστρογενή πρόωρο τοκετό αυξάνει (117).

5.21 Σεξουαλική δραστηριότητα κατά τη διάρκεια της κύησης

Η επίδραση της σεξουαλικής επαφής στη διάρκεια της κύησης και την τελική της έκβαση δεν έχει αποδειχθεί. Πολλές είναι οι μελέτες που έχουν ασχοληθεί, αλλά τα αποτελέσματά τους είναι αμφιλεγόμενα. Σε μια μελέτη το 1993, ο Read και συνεργάτες έδειξαν ότι η σεξουαλική επαφή δεν αυξάνει τον κίνδυνο για πρόωρο τοκετό, ενώ αντιθέτως είναι ένδειξη καλής ψυχικής υγείας (118).

Αντίθετα, οι Brustman και συνεργάτες το 1989, υποστήριξαν ότι μετά τη σεξουαλική επαφή οι γυναίκες έχουν 5 φορές εντονότερη μυομητρική δραστηριότητα, πιθανότατα λόγω των προσταγλανδινών που περιέχουν τα σπερματικά υγρά. Σε νεότερες μελέτες, διαπιστώθηκε ότι οι γυναίκες οι οποίες δεν είχαν σεξουαλικές επαφές κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της κύησης είχαν 28% κίνδυνο για πρόωρο τοκετό, σε αντίθεση με τις γυναίκες που είχαν επαφές, οι οποίες είχαν κίνδυνο 38% (119).

5.22 Περιβαλλοντικοί παράγοντες

Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες στους οποίους εκτίθενται οι γυναίκες κατά τη διάρκεια της κύησης παίζουν σημαντικό ρόλο στη διάρκεια της κύησης. Το αναπτυσσόμενο έμβρυο είναι πολύ ευαίσθητο και ευπαθές στους παράγοντες αυτούς. Σε πολλές επιδημιολογικές μελέτες έχει αναδειχθεί η επίδραση του περιβάλλοντος στον πρόωρο τοκετό (μόλυνση του αέρα, ραδιενέργεια, μόλυνση των υδάτων κ.ά.). Στις βιομηχανικές περιοχές, όπου η μόλυνση του περιβάλλοντος είναι έντονη, οι τοξίνες, τα νιτρώδη και το DDT συχνά ανιχνεύονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, φαίνεται να υπάρχει αυξημένος κίνδυνος για πρόωρο τοκετό (5).

Η αύξηση της συγκέντρωσης του διοξειδίου του αζώτου στη στην ατμόσφαιρα οδηγεί σε αύξηση του ποσοστού των πρόωρων τοκετών κατά 25% στη Λιθουανία (120). Τα πετρελαιοειδή αυξάνουν επίσης τον κίνδυνο για πρόωρο τοκετό. Το 2001, οι Wang και συνεργάτες παρατήρησαν ότι η έκθεση σε βενζίνη επηρέαζε τη σχέση μεταξύ δύο γονιδίων (κυτόχρωμα P450 και

γλουταθειόνη – S-τρανσφεράση), γεγονός που οδηγούσε σε πρόωρο τοκετό (121).

Η σταδιακά επιδεινούμενη μόλυνση της ατμόσφαιρας οδηγεί όχι μόνο σε κλιματολογικές αλλαγές αλλά και επίδραση της τελικής έκβασης της κύησης.

5.23 Φύλο του εμβρύου

Σε πολλές μελέτες έχει αποδειχθεί ότι τα έμβρυα αρσενικού φύλου έχουν αυξημένα ποσοστά θνητότητας και νοσηρότητας. Το 2002, όμως, σε μια μελέτη των Zeitlin και συνεργατών διεπιστώθη ότι τα αρσενικά έμβρυα έχουν αυξημένο κίνδυνο και για πρόωρο τοκετό (122). Ο τρόπος με τον οποίο αυτό μπορεί να διακιοιολογείται δεν είναι γνωστός. Μία από τις αιτίες, όμως, μπορεί να είναι ο χρόνος σύλληψης του αρσενικού εμβρύου (123) ή το μεγαλύτερο σωματικό βάρος των αρσενικών εμβρύων (124). Επιπλέον, μπορεί να σχετίζεται με την παραγωγή οιστρογόνων που είναι μεγαλύτερη στα αρσενικά έμβρυα (125).

5.24 Γονίδια και πρόωρος τοκετός

Αποδείξεις ότι οι γενετικοί παράγοντες συμβάλλουν στον πρόωρο τοκετό προέρχονται εξ αρχής από την συσχέτιση της προωρότητας με μεμονομένα γονιδιακά ελλείμματα (π.χ. σ. Ehlers – Danlos). Οι σπάνιες αυτές μεταλλάξεις, βέβαια, συμβάλλουν μερικώς τον πρόωρο τοκετό.

Οι κατηγορίες γονιδίων που κατά καιρούς έχουν μελετηθεί είναι αυτές που σχετίζονται με την αντίδραση του ξενιστή στη λοίμωξη και τη φλεγμονή και αυτές που σχετίζονται με τη σύνθεση εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Υποψήφια γονίδια που δυνητικά θα μπορούσαν να εμπλέκονται είτε με την αιμορραγία του πλακούντα είτε με τη μυομητρική δραστηριότητα, δεν έχουν ακόμη μελετηθεί διεξοδικά. Το μεγαλύτερο βάρος των ερευνητών έχει μεταπέσει στη μελέτη των προ- και αντι – φλεγμονωδών κυτταροκινών καθώς και των υποδοχέων αυτών (22, 124).

Υποψήφια γονίδια είναι αυτά που σχετίζονται με την απάντηση στη λοίμωξη (TLR – 4), με τη φλεγμονή (TNF – α , IL – 1 β , IL – 6, IGF – 1), γονίδια που σχετίζονται με το μεταβολισμό της θεμέλιας ουσίας (MMP – 1, MMP – 8, MMP – 9) και άλλα γονίδια, όπως SLC23A1, SLC23A2, Relaxin – 2, Surfactant Protein – D.

6. Λοίμωξη και πρόωρος τοκετός

Πολλές, ανεξάρτητες μελέτες έχουν αναφέρει μια συσχέτιση του πρόωρου τοκετού με τη διαδικασία της φλεγμονής. Από το 1943 οι Zahl και συνεργάτες είχαν καταφέρει να δημιουργήσουν ένα μοντέλο πειραματικής κύησης και να προκαλέσουν πρόωρο τοκετό, χορηγώντας ενδοτοξίνες (126). Αργότερα, τα πειράματα επαναλήφθηκαν και επεκτάθηκαν. Οι Benirschke και συν., το 1960 μελέτησαν τους εμβρυικούς υμένες ιστολογικά και έδειξαν ότι η λοίμωξη μπορεί να είναι αιτιολογικός παράγοντας πρόωρου τοκετού, ακόμη και αν τα κλινικά σημεία ενδομήτριας λοίμωξης απουσιάζουν (127). Το 1981, οι Daikoku και συνεργάτες απέδειξαν ότι η λοίμωξη έχει αιτιολογικό ρόλο στην πρόωρη ρήξη των μεμβρανών και τον πρόωρο τοκετό (128).

Τουλάχιστον 40% του συνόλου των πρόωρων τοκετών σχετίζεται με ενδομήτρια λοίμωξη. Σε πολλές περιπτώσεις είναι δύσκολο να διακριθεί αν η λοίμωξη είναι η αιτία ή η συνέπεια την διαδικασίας που οδηγεί στον πρόωρο τοκετό. Παρ' όλα αυτά, υπάρχουν αρκετά πλέον, δεδομένα που οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η λοίμωξη και η φλεγμονή που κινητοποιείται από τη διαδικασία της λοίμωξης, οδηγεί σε πρόωρο τοκετό. Βασικότερο στοιχείο από όλα είναι το γεγονός ότι το αμνιακό υγρό ασθενών με πρόωρο τοκετό είχε υψηλότερη συγκέντρωση και επίπεδα φλεγμονωδών κυτταροκινών από αυτό γυναικών ίδιας ηλικίας κύησης που δεν είχαν τελικά πρόωρο τοκετό (4,10). Επίσης, έχει βρεθεί ότι η ενδομήτρια ή συστηματική χορήγηση μικροβίων ή συστατικών της κυτταρικής τους μεμβράνης μπορεί να οδηγήσει σε πρόωρο τοκετό. Συστηματικές λοιμώξεις όπως πνευμονοφρίτιδα, πνευμονία και περιοδοντικές λοιμώξεις έχουν συσχετισθεί με πρόωρο τοκετό. Τέλος, υποκλινικές ενδομήτριες λοιμώξεις σχετίζονται με προωρότητα (10).

Η χορήγηση μικροοργανισμών ή ενδοτοξινών που παράγει το κυτταρικό τοίχωμα των μικροοργανισμών σε μοντέλα πειραματικής κύησης προκαλεί πρόωρο τοκετό. Πολλές ερευνητικές ομάδες έχουν συσχετίσει τον πρόωρο τοκετό με τη χορήγηση παθογόνων μικροοργανισμών. Σε κάποια πειράματα οι μικροοργανισμοί αναπαρήγαγαν ανιούσα λοίμωξη, ενώ σε κάποιες άλλες ομάδες η ενδοπεριτοναϊκή και μόνο χορήγηση ενδοτοξίνης του μικροοργανισμού, οδηγούσε σε πρόωρο τοκετό (129).

6.1 Βακτηριακή κολπίτιδα

Η βακτηριακή κολπίτιδα παρουσιάζεται κατά τη διάρκεια της κύησης σε ποσοστό 15-42% και αυξάνει τον κίνδυνο για πρόωρο τοκετό 2-4 φορές (7). Η μαύρη φυλή τόσο στις Η.Π.Α. όσο και στη Μ. Βρετανία έχουν 3 φορές μεγαλύτερη συχνότητα βακτηριακής κολπίτιδας από τις γυναίκες της λευκής φυλής και ίσως αυτό να εξηγεί και γιατί οι γυναίκες της μαύρης φυλής έχουν 50% μεγαλύτερο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό (27). Η βακτηριακή κολπίτιδα ορίζεται ως διαταραχή της φυσιολογικής χλωρίδας του κόλπου και υπερανάπτυξη άλλων κυρίως αναερόβιων βακτηρίων, όπως *Gardenerella*, *Bacteroides*, και *Mobiluncus* (7). Κλινικά διαγιγνώσκεται με την παρουσία clue cells, με pH του κόλπου μεγαλύτερο από 4.5, άφθονα λευκωπά κολπικά υγρά και δύσοσμα, όταν αυτά έρχονται σε επαφή με το υδροξείδιο του καλίου (κριτήρια του Amsel). Στο εργαστήριο, η βακτηριακή κολπίτιδα ορίζεται με βάση τα κριτήρια του Nugent, σύμφωνα με τα οποία εκτιμάται ο αριθμός των γαλακτοβάκιλων, ο οποίος τείνει να είναι χαμηλός και η παρουσία *Mobiluncus* και βακτηριοειδών, ο αριθμός των οποίων συχνά είναι υψηλός. Όταν το σκορ είναι 7-10, τότε τίθεται η διάγνωση της βακτηριακής κολπίτιδας και ο κίνδυνος για πρόωρο τοκετό είναι 1.5 έως 3 φορές μεγαλύτερος (27). Η βακτηριδιακή κολπίτιδα επάγει τη φλεγμονώδη απάντηση, όταν διαπιστωθούν πάνω από 5 ουδετερόφιλα κατά οπτικό πεδίο. Ο αυξημένος αριθμός ουδετερόφιλων σχετίζεται με αυξημένη συγκέντρωση κυτοκινών και ιντερλευκίνης -1 και -8 (144). Σε μια μετα-ανάλυση οι Leitich και συνεργάτες ανέλυσαν 18 ανεξάρτητες μελέτες και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο σχετικός κίνδυνος για πρόωρο τοκετό είναι μεγαλύτερος, όσο πιο μικρή είναι η ηλικία κύησης που τίθεται η διάγνωση της βακτηριακής κολπιτιδας (7). Επιπλέον, ανέφεραν

ότι η αλλαγή στη φυσιολογική χλωρίδα από τη βακτηριακή κολπίτιδα μπορεί να αυξάνει την ευαισθησία σε άλλες ανιούσες λοιμώξεις του γεννητικού σωλήνα (7,27).

6.2 Συστηματικές λοιμώξεις

Οι συστηματικές λοιμώξεις έχουν συσχετισθεί άμεσα με τον πρόωρο τοκετό (10). Οι λοιμώξεις του αναπνευστικού και ιδιαίτερα η πνευμονία έχει συσχετισθεί με τον πρόωρο τοκετό (10, 130-132).

Αξίζει να αναφέρουμε ότι οι έγκυες γυναίκες συχνά αναφέρουν ένα υποκειμενικό αίσθημα δύσπνοιας, όμως η ταχύπνοια δε δικαιολογείται (133,134). Επιπλέον, δεν πρέπει να ξεχνάμε ότι καθ' όλη τη διάρκεια της κύησης η γυναίκα έχει ήπια αλκάλωση, με pH 7.39-7.45 (133,135,136). Η επίπτωση της πνευμονίας κατά τη διάρκεια της κύησης είναι ίδια και εκτός κύησης (0.2-8.5 ανά 1000 κυήσεις). Η πνευμονία στην κύηση σχετίζεται με αυξημένη μητρική και εμβρυική θνησιμότητα, αλλά ο θάνατος κατά τη διάρκεια της κύησης, λόγω πνευμονίας είναι σπάνιος. Οι παράγοντες κινδύνου για πνευμονία κατά τη διάρκεια της κύησης είναι η αναιμία, το άσθμα, το κάπνισμα, η λήψη ανοσοκατασταλτικής αγωγής ή η ανοσοκαταστολή (HIV).

Το 2012, οι Chen και συνεργάτες μελέτησαν 1462 γυναίκες που νοσηλεύτηκαν για πνευμονία κατά τη διάρκεια της κύησής τους και τις συνέκριναν με 7310 γυναίκες χωρίς νόσημα στο αναπνευστικό τους. Οι γυναίκες οι οποίες είχαν πνευμονία, είχαν κίνδυνο 1.73 να κάνουν μωρά χαμηλού βάρους, κυρίως λόγω προωρότητας, να οδηγηθούν σε καισαρική τομή με κίνδυνο 1,71 και εκλαμψία 3.05 (137). Έτσι, το 12.3% των γυναικών γέννησαν πρόωρα, ενώ οι γυναίκες χωρίς πνευμονία γέννησαν πρόωρα μόνο σε ποσοστό 7.1 (137).

Οι λοιμώξεις του ουροποιητικού είναι, επίσης, συχνές κατά τη διάρκεια της κύησης. Η εστία της λοίμωξης μπορεί να εντοπίζεται είτε στο κατώτερο ουροποιητικό (οξεία κυστίτιδα), είτε στο ανώτερο ουροποιητικό (οξεία πυελονεφρίτιδα). Η ασυμπτωματική βακτηριουρία (θετική καλλιέργεια ούρων σε ασυμπτωματική ασθενή) συχνά εμφανίζεται τους πρώτους μήνες της κύησης. Η χάλαση των λείων μυικών ινών, καθώς και η διαστολή του

ουρητήρα που συνοδεύει την κίνηση, διευκολύνει την άνοδο των βακτηριδίων από την ουροδόχο κύστη. Για το λόγο αυτό, η ασυμπτωματική βακτηριουρία, κατά τη διάρκεια της κύησης έχει μεγαλύτερο κίνδυνο (έως και 40%) να εξελιχθεί σε πυελονεφρίτιδα. Η βακτηριουρία σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για πρόωρο τοκετό, χαμηλού βάρους νεογνό και περιγεννητική θνησιμότητα (138).

6.3 Ενδομήτριες λοιμώξεις

Οι ενδομήτριες λοιμώξεις αποτελούν σημαντικό παράγοντα κινδύνου για πρόωρο τοκετό. Ως ενδομήτρια λοίμωξη ορίζεται η λοίμωξη (πιο συχνά βακτηριακής αιτιολογίας) στο χόριο, το άμνιο ή τον πλακούντα. Η επίπτωση της ενδομήτριας λοίμωξης σχετίζεται αντιστρόφως ανάλογα με την ηλικία της κύησης. Εμπλέκεται στην πλειονότητα των πολύ πρόωρων τοκετών και στο 16% των πρόωρων τοκετών πριν την 34^η εβδομάδα της κύησης (3, 21). Οι μελέτες δείχνουν ότι η ενδομήτρια λοίμωξη σχετίζεται με 25-40% του συνόλου των πρόωρων τοκετών (3, 20) και για αυτό αποτελεί την κύρια αιτία πρόωρου τοκετού.

Η αμνιακή κοιλότητα είναι στείρα μικροβίων. Στο 1% των γυναικών με πρόωρο τοκετό θα αναπτυχθεί κάποιο βακτήριο στο αμνιακό υγρό. Ο αποικισμός αυτός συχνά είναι υποκλινικός και μη ανιχνεύσιμος χωρίς καλλιέργεια αμνιακού υγρού. Στους ασθενείς με πρόωρο τοκετό και ακέραιες μεμβράνες το ποσοστό των θετικών καλλιεργειών αμνιακού υγρού είναι 12,8% (10). Ανάμεσα στις γυναίκες με πρόωρη ρήξη των υμένων, το ποσοστό των θετικών καλλιεργειών είναι 32,4% (10,22) κατά τη εισαγωγή στο νοσοκομείο, ενώ έως και την ώρα του τοκετού το ποσοστό αυτό ανέρχεται στο 75% (10), δεικνύοντας με αυτόν τον τρόπο ότι η ρήξη των υμένων οδηγεί και στην απομάκρυνση του «φυσικού τοίχους προστασίας».

Η συχνότητα εμφάνισης της μικροβιακής εισβολής στην αμνιακή κοιλότητα, σε περιπτώσεις ανεπάρκειας τραχήλου ανέρχεται στο 51% (10). Αξίζει να αναφέρουμε ότι όλες οι στατιστικές στο παρελθόν έχουν υποεκτιμήσει τη συχνότητα εμφάνισης, καθώς διαπιστώθηκε ότι η παραδοσιακή

μέθοδος καλλιέργειας υπολείπεται πολύ, σε σχέση με τη νέα μέθοδο της ανάστροφης πολυμεράσης (10).

Η διάγνωση της ενδομήτριας λοίμωξης μπορεί να γίνει με την καλλιέργεια οποιουδήποτε μικροοργανισμού στο αμνιακό υγρό, καθώς αυτό φυσιολογικά είναι άσηπτο. Η λήψη αμνιακού υγρού γίνεται με την κλασσική διακοιλιακή μέθοδο, ενώ η διακολπική λήψη δεν έχει ευρεία αποδοχή, καθώς υπάρχει κίνδυνος επιμόλυνσης από τη χλωρίδα του κόλπου.

Η εστία της ενδομήτριας λοίμωξης μπορεί να εντοπίζεται στο αμνιακό υγρό, ανάμεσα στις εμβρυικές μεμβράνες, στο χώρο μεταξύ φθαρτού και εμβρυικών μεμβρανών ή τέλος, στο ίδιο το έμβρυο. Μόνο 50% των γυναικών με λοίμωξη των εμβρυικών μεμβρανών θα έχουν θετική καλλιέργεια αμνιακού υγρού. Η ενδομήτρια λοίμωξη, μπορεί να εκδηλωθεί ως συστηματική λοίμωξη (χοριοαμνιονίτιδα) με πυρετό, λευκοκυττάρωση και ευαισθησία στη μήτρα, σε ποσοτό 5-10%, ενώ η πλειονότητα αυτών δε θα εκδηλώσει κλινική συμπτωματολογία.

Η ενδομήτρια λοίμωξη κινητοποιεί μια ανοσολογική διαταραχή με τελικό αποτέλεσμα την παραγωγή κυτταροκινών, προσταγλανδινών και άλλων φλεγμονοδών παραγόντων. Όλες αυτές οι ανοσολογικές διαταραχές οδηγούν στην έναρξη της μυομητρικής δραστηριότητας, τη διαστολή του τραχήλου, την πρόωρη ρήξη των υμένων και τον πρόωρο τοκετό (139-141).

Τα περισσότερα δεδομένα προέρχονται από τη μελέτη του πλακούντα. Περιγράφονται στοιχεία χοριοαμνιονίτιδας στους πλακούντες 20-75% των πρόωρων τοκετών και θετική καλλιέργεια μεμβρανών σε ποσοστό 30-60% (27). Το ποσοστό αυτό αυξάνει καθώς μικραίνει η ηλικία κύησης: 15% στις 28-32 εβδομάδες κύησης, 8% στις 33-36 εβδομάδες και 5% μετά την 36^η εβδομάδα της κύησης (27).

Σε άλλες μελέτες έχει αποδειχθεί ότι οι μικροοργανισμοί που σχετίζονται με τον πρόωρο τοκετό είναι ικανοί είτε να παράγουν άμεσα προσταγλανδίνες, είτε να παράγουν φωσφολιπάση A₂, η οποία απαλευθερώνει μη εστεροποιημένο αραχιδονικό οξύ από τα φωσφολιπίδια των μεμβρανών οδηγώντας με τη σειρά της σε αυξημένη παραγωγή προσταγλανδινών (27, 35). Οι προσταγλανδίνες αυξάνουν τη συσταλτικότητα

της μήτρας, καθώς επίσης και συμβάλλουν στην αλλαγή της σύστασης του τραχήλου.

Οι μικροοργανισμοί έχουν τέσσερις διόδους διείσδυσης στην ενδομήτρια κοιλότητα:

- ανιούσα λοίμωξη από τον κόλπο, η οποία είναι και η πιο συχνή
- ανάστροφη λοίμωξη από την περιτοναϊκή κοιλότητα, μέσω των σαλπίγγων
- αιματογενώς, μέσω του πλακούντα
- επιλοίμωξη, μετά από επεμβατικές μεθόδους

Η πιο συχνή οδός είναι η ανιούσα λοίμωξη (142). Η άποψη αυτή ενισχύεται από το γεγονός ότι όλες οι περιπτώσεις συγγενούς πνευμονίας νεογνών σχετίζονται με χοριοαμνιονίτιδα, και σε όλες αυτές τις περιπτώσεις, τα βακτήρια που εντοπίζονται στα νεογνά είναι ίδια με αυτά που ανευρίσκονται στο κατώτερο γεννητικό σύστημα της μητέρας (142). Επιπλέον, σε πολύδυμες κυήσεις, η ιστολογικά τεκμηριωμένη χοριοαμνιονίτιδα είναι πιο συχνή στο πρώτο νεογνο, ενώ ποτέ δεν έχει εντοπιστεί μόνο στο δεύτερο. Αυτό, ίσως, να διακιοιολογείται καθώς οι μεμβράνες του πρώτου νεογνού είναι κοντά στον τράχηλο και έτσι διευκολύνεται η ανιούσα λοίμωξη.

Ο παθοφυσιολογικός μηχανισμός που δικαιολογεί την ανιούσα λοίμωξη στηρίζεται στο γεγονός ότι μετά την παρουσία του παθογόνου μικροοργανισμού στον κόλπο (π.χ. βακτηριδιακή κολπίτιδα), ακολουθεί είσοδος του στην ενδομήτρια κοιλότητα, στο φθαρτό και επέκταση στο χόριο. Ακολούθως, η λοίμωξη μπορεί να επεκταθεί στο αμνιακό υγρό, ακόμη και αν δεν έχει προηγηθεί ρήξη των εμβρυικών μεμβρανών. Από εκείνο το σημείο και μετά η εμβρυική λοίμωξη, όπως συγγενής πνευμονία, ωτίτιδα, επιπεφυκίτιδα κ.ά. είναι πιθανή (142).

Τα πιο κοινά μικρόβια που απομονώνονται από την αμνιακή κοιλότητα γυναικών με πρόωρο τοκετό και ακέραιες μεμβράνες είναι το *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* και *Fusobacterium*. Το 50%

των γυναικών με βекτηριακή λοίμωξη θα αναπτυχθούν πάνω από ένας μικροοργανισμός (142). Επιπλέον, ο ρόλος του *Chlamydia trachomatis*, αν και τα προηγούμενα χρόνια ήταν αμφιλεγόμενος, σε τελευταίες μελέτες ,έχει διαπιστωθεί συγγενής πνευμονία σε νεογνό, μετά από πρόωρο τοκετό που οφείλονταν σε χλαμύδια και έτσι η σχέση του με την ανιούσα λοίμωξη και τον πρόωρο τοκετό, πλέον εδραιώνεται. Σε αυτό έχει συμβάλλει τα τελευταία χρόνια και η χρήση της PCR, με την οποία είναι εφικτό να επιβεβαιωθεί η ανάπτυξη των χλαμυδίων στο αμνιακό υγρό (142,143).

Chlamydia trachomatis

Η επίπτωση της χλαμυδιακής λοίμωξης είναι 4-25%, ενώ κατά τη διάρκεια της κύησης η συχνότητα εμφάνισης είναι περίπου 20% (144). Η παρουσία των χλαμυδίων στον κατώτερο γεννητικό σωλήνα κατά τη διάρκεια της κύησης μπορεί να οδηγήσει σε συγγενή πνευμονία (15%) και νεογνική επιπεφυκίτιδα (20%) (143). Σε κάποιες μελέτες η παρουσία χλαμυδίων δε συσχετίστηκε άμεσα με τον πρόωρο τοκετό. Το σίγουρο είναι, όμως, ότι τα χλαμύδια προκαλούν ανεπάρκεια τραχήλου, γεγονός που δυνητικά θα οδηγήσει στον πρόωρο τοκετό.

GBS

Ο στρεπτόκοκκος της ομάδας B είναι gram – θετικός κόκκος που συχνά αποικίζει το γεννητικό σύστημα, το γαστρεντερικό σωλήνα και το ανώτερο αναπνευστικό στα παιδιά. Κατά τη διάρκεια της κύησης η λοίμωξη με GBS αποτελεί συχνή αιτία ασυμπτωματικής βακτηριουρίας, λοίμωξη του ουροποιητικού, λοίμωξη του ανώτερου γεννητικού συστήματος (ενδοαμνιακή λοίμωξη, χοριοαμνιονίτιδα), πνευμονία (2%). Η λοίμωξη με GBS σχετίζεται με πρόωρο τοκετό και ενδομήτριο θάνατο (145,146).

Η ασυμπτωματική βακτηριουρία που οφείλεται σε GBS κατά τη διάρκεια της κύησης είναι ένδειξη βαριάς λοίμωξης και σχετίζεται με κίνδυνο επέκτασης της λοίμωξης και ενδομητρίτιδα της λοχείας.

Η πυελοβεφρίτιδα από GBS εμφανίζεται στο 10% του συνόλου των πυελονεφρίτιδων κατά τη διάρκεια της κύησης (147,148).

Η θεραπεία για GBS κατά τη διάρκεια του τοκετού μειώνει την πιθανότητα λοίμωξης του νεογνού, δε βελτιώνει, όμως, τα ποσοστά νεογνικής θνητότητας (149,150).

Mycoplasma hominis – Ureaplasma urealyticum

Τα μυκοπλάσματα συχνά έχουν ανιχνευθεί στο αμνιακό υγρό γυναικών με πρόωρο τοκετό. Παρ' όλα αυτά, η επίδρασή τους στον πρόωρο τοκετό είναι αμφιλεγόμενη. Το 2012 οι Choi και συνεργάτες μελέτησαν τις καλλιέργειες κολπικού υγρού 126 γυναικών με πρόωρο τοκετό και τις δυνέκριναν με τις καλλιέργειες 91 γυναικών που δεν είχαν τελικά πρόωρο τοκετό. Το *U. urealyticum* ανιχνεύθηκε σε ποσοστό 62.7%, ενώ το *M. hominis* σε ποσοστό 12,7%. Η επίπτωση αυτών δεν είχε στατιστικά σημαντική διαφορά στις δύο ομάδες (151,152). Επιπλέον, σε μια μελέτη των Eschenbach και συνεργατών, η θεραπεία με ερυθρομυκίνη ή placebo σε γυναίκες με *U. urealyticum* δεν τροποποίησε τα ποσοστά του πρόωρου τοκετού (153).

Trichomonas vaginalis

Η επίπτωση της *T. vaginalis* κατά τη διάρκεια της κύησης είναι 12% (153) και έχει συσχετισθεί τόσο με πρόωρη ρήξη των υμένων, όσο και με πρόωρο τοκετό. Παρ' όλα αυτά, η θεραπεία της με μετρονιδαζόλη δεν έχει βρεθεί ότι βελτιώνει την τελική έκβαση ή ότι μειώνει το ποσοστό του πρόωρου τοκετού (154)

7. Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί πρόωρου τοκετού

Πολλοί είναι οι παράγοντες που θα μπορούσαν να τροποποιηθούν ή να διακοπούν ώστε κάποιος από τους παράγοντες να αρθεί και να αποφευχθεί η έναρξη του τοκετού.

Σύμφωνα με όσα αναφέραμε η έναρξη του πρόωρου τοκετού είναι πολυπαραγοντική και τα αίτια ποικίλλουν με βάση την ηλικία κύησης. Ο παθοφυσιολογικός μηχανισμός της έναρξης του πρόωρου τοκετού είναι δαιδαλώδης και το μονοπάτι αν και έχει μελετηθεί διεξοδικά, δεν έχει καταγραφεί πλήρως. Πολλές είναι οι θεωρίες που περιγράφουν την

παθοφυσιολογία της έναρξης του πρόωρου τοκετού, χωρίς καμία από αυτές να είναι απόλυτα αποδεδειγμένη. Οι επικρατούσες θεωρίες είναι τέσσερις:

- i. Stress - Πρώιμη ενεργοποίηση του άξονα υποθαλάμου – υπόφυσης – επινεφριδίων του εμβρύου ή της μητέρας
- ii. Μητροπλακουντιακή θρόμβωση – αιμορραγία / αποκόλληση πλακούντα.
- iii. Μηχανικά φαινόμενα – υπερδιάταση της μήτρας.
- iv. Η ενεργοποίηση του καταρράκτη της φλεγμονής (υπεύθυνο για την πλειονότητα των πολύ πρόωρων τοκετών).

Κάθε ένα από αυτά τα παθοφυσιολογικά μονοπάτια μπορεί να επηρεαστεί από περιβαλλοντικούς ή γονιδιακούς παράγοντες. Παρ' όλα αυτά, υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι παρά τα διαφορετικά αίτια που κινητοποιούν την έναρξη του πρόωρου τοκετού, ο πρόωρος και τελειόμηνος τοκετός έχουν πολλά κοινά μονοπάτια στην ενεργοποίησή τους που σχετίζονται με το ενδοκρινές, παρακρινές και ανοσοποιητικό σύστημα (155).

7.1 Stress και πρώιμη ενεργοποίηση του άξονα υποθαλάμου – υπόφυσης – επινεφριδίων του εμβρύου ή της μητέρας

Το stress έχει αναφερθεί ως σημαντικός παράγοντας κινδύνου για τον πρόωρο τοκετό. Το stress ορίζεται ως κάθε πρόκληση (σωματική ή ψυχολογική) που μπορεί να απειλήσει ή να απορρυθμίσει την ομοιόσταση του οργανισμού. Το νευρο-ενδοκρινικό σύστημα συνδέει το stress με τον πρόωρο τοκετό, με ενδιάμεσο μεσολαβητή την πλακουντιακή CRH. In vitro μελέτες σε ανθρώπινα πλακουντιακά κύτταρα έδειξαν ότι η CRH απελευθερώνεται από καλλιεργημένα ανθρώπινα πλακουντιακά κύτταρα με ένα δοσο-εξαρτώμενο τρόπο, ως απάντηση σε όλους τους βιολογικούς παράγοντες που κινητοποιεί το stress, όπως κορτιζόλη, κατεχολαμίνες, ωκυτοκίνη, αγγιοτενσίνη –II και IL-1. In vivo μελέτες έχουν ακόμη διαπιστώσει αύξηση των επιπέδων CRH στο πλάσμα της μητέρας, λίγο πριν την έναρξη του τοκετού. ενώ συνάμα διαπίστωσαν ότι οι γυναίκες που είχαν πρόωρο τοκετό είχαν ακόμη πιο αυξημένα επίπεδα CRH (155).

Η κύηση, λοιπόν, προκαλεί πολλές αλλαγές στο νευρο-ενδοκρινικό, ανοσοποιητικό και αγγειακό σύστημα της μητέρας που επηρεάζει το ενδομήτριο περιβάλλον, για την εμβρυική ανάπτυξη και τον τοκετό. Η ενεργοποίηση του βασικού αυτού ενδοκρινικού άξονα φαίνεται να εμπλέκεται και στο φυσιολογικό τοκετό και ίσως να είναι ο μηχανισμός που να χαρακτηρίζει το βιολογικό ρολόι που σηματοδοτεί την έναρξη μιας φυσιολογικής διαδικασίας. Στον πρόωρο τοκετό, φαίνεται να υπάρχει μια πρόωρη ενεργοποίηση του άξονα αυτού, τόσο στη μητέρα όσο και στο έμβρυο, και ο μηχανισμός αυτός φαίνεται να εμπλέκεται στα περιστατικά εκείνα που συμβαίνουν σχετικά αργά στην κύηση και μάλλον μετά την 32η εβδομάδα. Στη μητέρα, οι λόγοι που οδηγούν σε αυτή την άκαιρη πυροδότηση είναι ένα ψυχολογικό ή σωματικό stress. Αυτός θα μπορούσε να είναι και ένας μηχανισμός που να εξηγεί τις περιπτώσεις πρόωρου τοκετού σε χαμηλότερα κοινωνικοοικονομικά στρώματα, σε ανύπαντρες μητέρες, σε περιπτώσεις έντονης σωματικής άσκησης, χρόνιων συστηματικών λοιμώξεων ή φλεγμονών, αφού όλες αυτές οι περιπτώσεις συνοδεύονται από χρόνιο stress. Η ενεργοποίηση του άξονα του υποθαλάμου – υπόφυσης – επινεφριδίων (ΥΥΕ) εμπλέκεται ως ρυθμιστικός παράγοντας σε μία πληθώρα φυσιολογικών διεργασιών του ανθρώπινου οργανισμού, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα η απορρύθμιση αυτού να οδηγεί σε πολλές παθολογικές καταστάσεις. Οι περισσότεροι από τους παράγοντες κινδύνου για πρόωρο τοκετό που περιγράφησαν παραπάνω μπορούν να συμβάλλουν στην ενεργοποίηση του ΥΥΕ άξονα. Η CRH παράγεται φυσιολογικά από τον υποθάλαμο. Κατά τη διάρκεια της κύησης, όμως, παράγεται και από το χόριο, το φθαρτό και την τροφοβλάστη. Κατά τη διάρκεια της κύησης και αμέσως μετά τον τοκετό, η μητρική έκκριση CRH από τον υποθάλαμο, μειώνεται εξαιτίας των επιπέδων της κυκλοφορούσας κορτιζόλης. Η κορτιζόλη, με τη σειρά της, διεγείρει την παραγωγή CRH από τον πλακούντα, οπότε εμφανίζεται ένας θετικός ανατροφοδοτικός βρόγχος. Παράλληλα, η παραγωγή προσταγλανδινών από τον πλακούντα, υπό την επίδραση της CRH, τον διεγείρουν να παράγει περισσότερη CRH. Από τα μέσα της κύησης που ωριμάζει ο άξονας ΥΥΕ του εμβρύου, τα εμβρυϊκά επινεφρίδια αρχίζουν να παράγουν κορτιζόλη με αποτέλεσμα την αύξηση της ελεύθερης κορτιζόλης στο μητρικό αίμα. Τα κυκλοφορούντα επίπεδα της CRH-δεσμεύουσας

πρωτεΐνης μειώνονται προς το τέλος της κύησης, οδηγώντας σε αύξηση των επιπέδων της CRH στον ορό. Η πλακουντιακή CRH παίζει σημαντικό ρόλο στην προετοιμασία της ανάπτυξης της μήτρας και στη διέγερση των κυττάρων του μυομητρίου, ενώ συμβάλλει στην επικοινωνία μεταξύ του πλακούντα και των επινεφριδίων, ώστε να απελευθερώνουν κορτιζόλη στη μητρική και εμβρυική κυκλοφορία. Προς το τέλος της κύησης, λοιπόν, παρατηρείται αύξηση των επιπέδων της κορτιζόλης, των προσταγλανδινών και της CRH. Με αυτήν τη θεωρία εξηγείται και η μείωση της προγεστερόνης που παρατηρείται προς το τέλος της κύησης. Συνοψίζοντας, λοιπόν, η έκκριση CRH από τη μητέρα έχει ως αποτέλεσμα αφενός την έκκριση κορτιζόλης, η οποία δρα στον πλακούντα και διεγείρει την περαιτέρω έκκριση CRH από αυτόν (παρατηρείται δηλαδή ένα κύκλωμα θετικής βιοανάδρασης -positive feedback- σε αντίθεση με τον υποθάλαμο, όπου το αντίστοιχο κύκλωμα έχει αρνητικό χαρακτήρα) και αφετέρου, την άμεση δράση της ίδιας στις μεμβράνες, στο φθαρτό και στα τροφοβλαστικά κύτταρα, που έχει ως αποτέλεσμα τη σύνθεση και την έκκριση προσταγλανδινών τοπικά, ενώ δεν αποκλείεται και η απευθείας δράση της στο μυομήτριο(156).

Η απάντηση του εμβρύου στο stress περιλαμβάνει την αύξηση της έκκρισης της CRH από τον υποθάλαμό του (ο άξονας YEE στο έμβρυο λειτουργεί από την 7η-8η εβδομάδα της ενδομήτριας ζωής). Η κορτιζόλη που παράγεται από τα επινεφρίδια του εμβρύου εμποδίζει την ανασταλτική επίδραση της προγεστερόνης στην παραγωγή της πλακουντιακής CRH και έτσι οδηγεί σε αύξηση αυτής. Η πλακουντιακή CRH με τη σειρά της επιδρά άμεσα στο έμβρυο και βοηθά στη διέγερση των εμβρυικών επινεφριδίων να παράγουν δεϋδροεπιανδροστερόνη (DHEA), προδρομο μόριο της παραγωγής οιστρογόνων από τον πλακούντα. Η κινητοποίηση του μηχανισμού αυτού διεγείρει την περαιτέρω έκκριση CRH από τον πλακούντα. Επιπλέον, η αυξημένη ποσότητα εμβρυϊκής κορτιζόνης αφενός δρα στους εμβρυϊκούς πνεύμονες προκαλώντας την ωρίμανσή τους, αφετέρου ανταγωνίζεται την προγεστερόνη στους υποδοχείς γλυκοκορτικοειδών του πλακούντα, καταλαμβάνοντάς τους τελικά. Η απομάκρυνση της προγεστερόνης -που παίζει ανασταλτικό ρόλο στη διέγερση της μήτρας- από τους υποδοχείς της, οδηγεί τελικά στην κατάληψη αυτών των θέσεων από την

κορτιζόνη και στη διέγερση περαιτέρω έκκρισης CRH από τον πλακούντα. Τέλος, η DHEA-S από τα εμβρυϊκά επινεφρίδια αποτελεί πρόδρομο ουσία για την παραγωγή από τον πλακούντα οιστρονής, οιστραδιόλης και οιστριόλης, αφού ο πλακούντας δεν έχει τον ενζυματικό μηχανισμό να μετατρέψει την προγεστερόνη (που αποτελεί και το μοναδικό στεροειδές που παράγει) σε οιστριόλη.

Τα οιστρογόνα που τελικά παράγονται από τον πλακούντα, σε αυξημένες τώρα πια ποσότητες, έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση των διακυτταρικών συνδέσμων (gap junctions) στα κύτταρα του μυομητρίου, την αύξηση των υποδοχέων της οξυτοκίνης, καθώς και την αυξημένη παραγωγή ενζύμων που είναι υπεύθυνα για τη σύσπαση των μυϊκών ινών του μυομητρίου (κινάση της ελαφράς αλύσου της μυοσίνης, καλμοδουλίνη). Λόγω του ότι η οιστριόλη, που αποτελεί και το κύριο οιστρογόνο της κύησης, προέρχεται κατά 90% τουλάχιστον από την εμβρυϊκή DHEA-S, η πρόωρη αύξησή της φαίνεται να αντανakλά με αρκετά μεγάλη ακρίβεια την πρόωρη ενεργοποίηση του άξονα YEE του εμβρύου (156).

7.2 Μητροπλακουντιακή θρόμβωση – αποκόλληση / αιμορραγία πλακούντα

Οι αγγειακές βλάβες του πλακούντα είναι πολύ κοινές και σχετίζονται με τον πρόωρο τοκετό και την πρόωρη ρήξη των υμένων (PPROM). Αγγειακές βλάβες στον πλακούντα έχουν αναφερθεί στο 34% των γυναικών που είχαν πρόωρο τοκετό, στο 35% των γυναικών με πρόωρη ρήξη των υμένων και στο 12% των γυναικών με μη επιτεπλεγμένες κυήσεις. Οι βλάβες αυτές μπορεί να οφείλονται ως αποτυχία του φυσιολογικού μετασχηματισμού των σπειροειδών αρτηριών και θρόμβωση μητρικών ή εμβρυικών αρτηριών. Ο πιθανός μηχανισμός που συνδέει τις αγγειακές βλάβες με τον πρόωρο τοκετό είναι η μητροπλακουντιακή ισχαιμία. Αν και ο παθοφυσιολογικός μηχανισμός παραμένει ασαφής, η θρομβίνη που είναι το τελικό προϊόν του εξωγενούς μηχανισμού πήξης φαίνεται να παίζει πολύ σημαντικό ρόλο.

Ιστικός παράγοντας που παράγεται από το φθαρτό, αντιδρά με τον ενεργοποιημένο παράγοντα VII (VIIa) και έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή του ενεργοποιημένου παράγοντα X (Xa). Αυτός με τη σειρά του θα αντιδράσει με τον ενεργοποιημένο παράγοντα V (Va), με τελικό αποτέλεσμα την παραγωγή θρομβίνης. Η θρομβίνη μπορεί να ενεργοποιήσει διάφορες πρωτεάσες και μεταλλοπρωτεϊνάσες, οι οποίες δρώντας στην επιφάνεια των εμβρυϊκών μεμβρανών δημιουργούν ευένδοτα σημεία που προδιαθέτουν σε PPRM . Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMP) καταστρέφουν την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία των εμβρυϊκών μεμβρανών και συμβάλλουν στην πρόωρη ρήξη των υμένων. In vitro, διεπιστώθη ότι η θρομβίνη αυξάνει σημαντικά την έκφραση των MMP-1, MMP-3 και MMP-9 στα κύτταρα του φθαρτού και των εμβρυϊκών μεμβρανών που συλλέχθηκαν από μη επιπεπλεγμένες κυήσεις (155). Επιπλέον, η θρομβίνη προκαλεί μια δοσο-εξαρτώμενη αύξηση της IL-8 στο φθαρτό, μια κυτταροκίνη υπεύθυνη για τη στρατολόγηση των ουδετερόφιλων. Παράλληλα, έχει βρεθεί ότι σε περιπτώσεις αποκόλλησης πλακούντα διήθηση αυτού από ουδετερόφιλα, που αποτελούν μια πλούσια πηγή πρωτεασών και μεταλλοπρωτεασών (MMP). Τέλος, in vitro, έχει φανεί ότι η θρομβίνη δρα τόσο ινότροπα, όσο και χρονότροπα, σε λείες μυϊκές ίνες από μυομήτριο, φαινόμενο που αναστέλλεται όταν προστεθεί ορός αίματος που περιέχει αναστολείς της θρομβίνης. Στοιχεία που θέτουν ενδείξεις υπέρ αυτής της άποψης είναι μια πρόσφατη πιλοτική μελέτη, όπου συμπλέγματα θρομβίνης-αντιθρομβίνης III (TAT), που είναι δείκτες ενεργοποίησης της θρομβίνης, ανιχνεύθηκαν σε υψηλά επίπεδα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, σε ασθενείς που παρουσίασαν μια συμπτωματολογία πρόωρου τοκετού και γέννησαν μέσα στις επόμενες 3 εβδομάδες. Συγκέντρωση TAT μεγαλύτερη από 8,0ng/ml είχε ευαισθησία 50%, ειδικότητα 91%, θετική προγνωστική αξία 80% και αρνητική προγνωστική αξία 71%, ενώ για συγκεντρώσεις TAT >6,3ng/ml, τα αντίστοιχα μεγέθη ήταν 75%, 73%, 67% και 73%. Τα δεδομένα αυτά μπορεί να οδηγούν στο σχεδιασμό ενός μηχανισμού περιγραφής της πρόωρης ρήξης των υμένων σε έδαφος αιμορραγίας από τον πλακούντα(157).

7.3 Μηχανικά φαινόμενα – Υπερδιάταση της μήτρας

Η παθολογική διάταση της μήτρας, όπως συμβαίνει σε περίπτωση υδραμνίου, των πολύδυμων κυήσεων και της μακροσωμίας του εμβρύου, είναι γνωστό ότι μπορεί να οδηγήσει σε πρόωρο τοκετό. Ο παθοφυσιολογικός μηχανισμός που παρεμβάλλεται ανάμεσα σε αυτά τα δύο γεγονότα, φαίνεται να ξεκινά από την υπερβολική διάταση τόσο των ινών του μυομητρίου, όσο και των εμβρυϊκών μεμβρανών. Η μεν πρώτη μπορεί να οδηγήσει σε παραγωγή προσταγλανδινών E2 και F2a, σε σχηματισμό διακυτταρικών συνάψεων (gap junctions) μεταξύ των μυϊκών ινών, αλλά και σε παραγωγή υποδοχέων οξυτοκίνης και έκφραση πρωτεϊνών διακυτταρικών συνάψεων, όπως η CX-43 και CX-26, ενώ η δεύτερη μπορεί να προκαλέσει την παραγωγή ιντερλευκίνης-8 (IL-8) και κολλαγενασών, οι οποίες μπορεί να δημιουργήσουν ένα ευένδοτο σημείο στις εμβρυϊκές μεμβράνες, καταλήγοντας έτσι σε πρόωρη ρήξη των εμβρυϊκών υμένων. Σε In vitro μελέτες η διάταση μυομητρικών ινών αυξάνει την παραγωγή PGHS-2 και PGE. Η διάταση των μυών του κατώτερου τμήματος της μήτρας έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει τα επίπεδα της IL-8, καθώς επίσης και της παραγωγής κολλαγενασών, που εν τέλει διευκολύνει τη διαστολή του τραχήλου. Επιπλέον, μπορεί να υπάρχει μια αλληλεπίδραση ανάμεσα στα μηχανικά και τα ενδοκρινικά σήματα. Σε in vivo μελέτες παρατηρήθηκε ότι σε ωθηκεκτομηθέντες αρουραίους, ως απάντηση σε μηχανική διάταση της μήτρας εντοπίζονται αυξημένα επίπεδα CX-43. Ομοίως, σε διάταση της μήτρας αρουραίων, κατά τη μέση της διάρκειας της κύησης η έκφραση της CX-43 δεν επηρεάζονταν, καθώς τα επίπεδα της προγεστερόνης ήταν ακόμη υψηλά. Η μείωση της προγεστερόνης κατά την έναρξη του τοκετού επιτρέπει την επαγόμενη από την έκφραση της CX-43 διάταση των μυϊκών ινών (158).

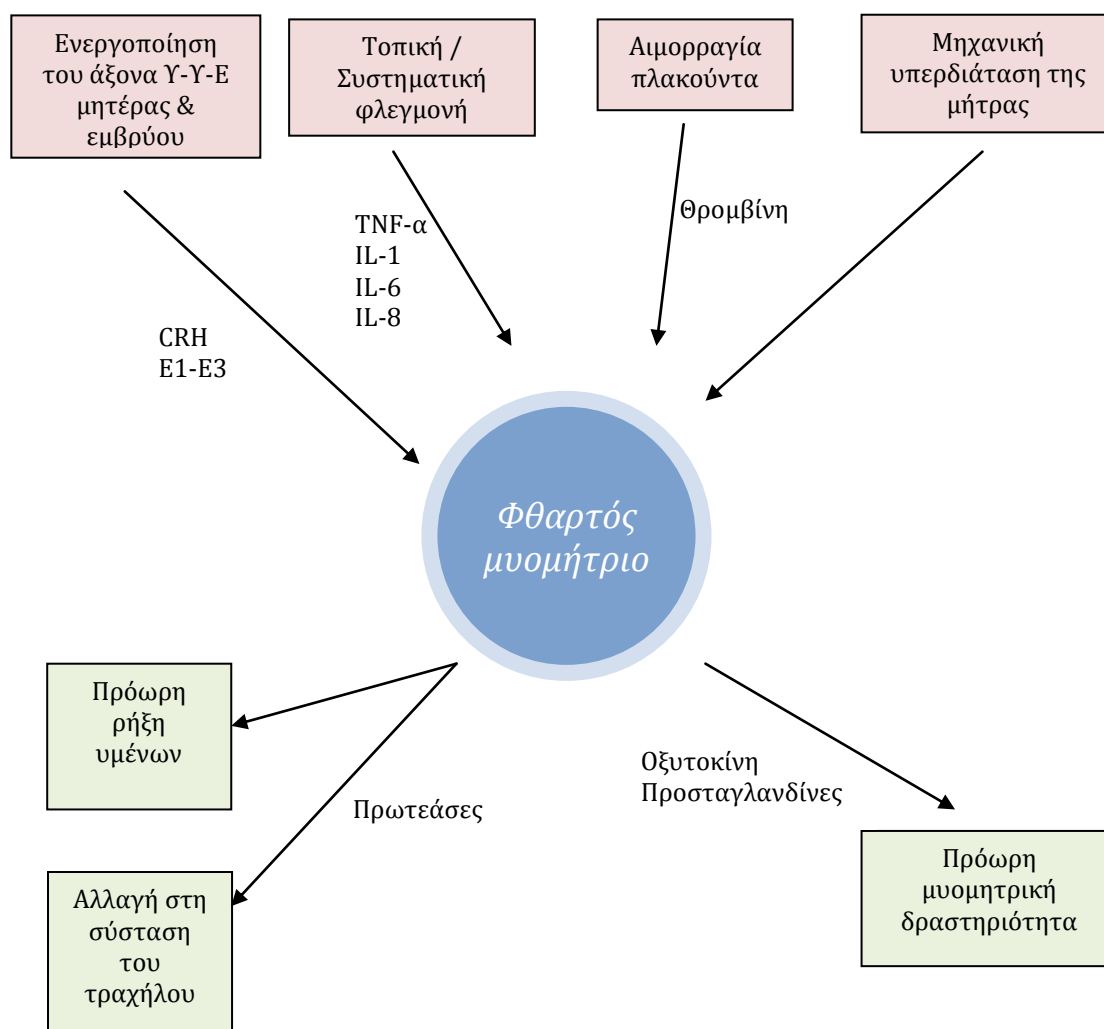
7.4 Ενεργοποίηση του καταρράκτη της φλεγμονής

Τα στοιχεία τα οποία δείχνουν ότι ο πρόωρος τοκετός μπορεί να είναι αποτέλεσμα μιας φλεγμονώδους διαδικασίας, η οποία έχει ως τελικό αποτέλεσμα την εμφάνιση πρόωρης μυομητρικής δραστηριότητας ή την

πρόωρη ρήξη των εμβρυϊκών υμένων, είναι πολλά. Η φλεγμονώδης αυτή διαδικασία μπορεί να είναι άσηπτη, π.χ. ως αποτέλεσμα υποξίας του εμβρύου, αν και τα περισσότερα στοιχεία καταδεικνύουν ότι μάλλον κάποια μικρόβια αποτελούν το έναυσμα για την έναρξη της αλυσιδωτής αντίδρασης που θα καταλήξει σε μια φλεγμονώδη απάντηση από τη μητέρα ή το έμβρυο. Ένα ακόμη σημαντικό σημείο που χαρακτηρίζει τη φλεγμονώδη απόκριση της μητέρας κατά την παθογένεση του πρόωρου τοκετού είναι ο κεντρικός ρόλος των ουδετερόφιλων, ενώ τα μακροφάγα κύτταρα και οι προφλεγμονώδεις διαλυτοί παράγοντες φαίνεται να διαδραματίζουν δευτερεύοντα ρόλο. Η αυξημένη παραγωγή TNFα και IL-1β –και μάλιστα η παράλληλη αύξησή τους- φαίνεται να είναι κεφαλαιώδους σημασίας για την έναρξη της φλεγμονώδους απόκρισης που θα οδηγήσει τελικά στον πρόωρο τοκετό¹⁶⁷. Η IL-1β και TNF-α αφενός προάγουν άμεσα την παραγωγή MMP από το φθαρτό και το άμνιο, και αφετέρου προάγουν τη δράση των προσταγλανδινών, επάγοντας την έκφραση του COX-2 αλλά και αναστέλλοντας το βασικό μεταβολίτη των προσταγλανδινών (την 15-υδροξυ-δεϋδρογενάση των προσταγλανδινών, PGDH). Ο σημαντικός ρόλος της λοίμωξης και της ενεργοποίησης του μηχανισμού φλεγμονής στον πρόωρο τοκετό ενισχύεται από πολλές μελέτες όπου η χορήγηση βακτηρίων σε εγκύμονα πειραματόζωα οδήγησε σε πρόωρο τοκετό. Επιπλέον, τόσο οι συστηματικές λοιμώξεις της μητέρας, όσο και η εντοπισμένη ενδομήτρια λοίμωξη μπορεί να έχει το ίδιο αποτέλεσμα. Ο μηχανισμός δεν έχει πλήρως μελετηθεί, όμως έχει διαπιστωθεί ότι τα βακτήρια ή οι λιποπολυσακχαρίτες των τοιχωμάτων τους προάγουν την παραγωγή πρωτεασών, ελαστάσης ή κολλαγενασών, οπότε και να οδηγήσουν στην πρόωρη ρήξη των υμένων. Επιπλέον, ευθύνονται για την παραγωγή φωσφολιπάσης A2, η οποία είναι το κύριο ένζυμο που απαιτείται για την παραγωγή προσταγλανδινών. Η συστηματική λοίμωξη της μητέρας μπορεί να προκαλέσει πρόωρο τοκετό, είτε μετά από υψηλό πυρετό και αφυδάτωση (άρα παραγωγή οξυτοκίνης), είτε μετά από απελευθέρωση στη συστηματική κυκλοφορία προφλεγμονωδών παραγόντων, π.χ. TNF-α, IL-1β που μπορούν να προκαλέσουν πρόωρη μυομητρική δραστηριότητα (159).

Τέλος, πιστεύεται ότι ο πρόωρος τοκετός μπορεί να είναι το τελικό αποτέλεσμα μιας φλεγμονώδους αντίδρασης που προκλήθηκε λόγω της

παρουσίας μικροβίων στην ενδοαμνιακή κοιλότητα. Η παρουσία των μικροβίων στη στείρα αυτή κοιλότητα μπορεί να εξηγηθεί με 2 κυρίως μηχανισμούς: με την ανιούσα οδό, από τον κόλπο και δια μέσω του τραχήλου κάποια μικρόβια μπορεί να προσβάλλουν σταδιακά όλα τα στοιχεία της κύησης και, τελικά, και το ίδιο το έμβρυο ή, υπάρχουν ενδείξεις ότι μπορεί να προϋπήρχαν στην ενδομήτρια κοιλότητα, ακόμα και πριν τη σύλληψη, και η παρουσία τους να εκδηλώθηκε τελικά στη διάρκεια της κύησης ως πρόωρες συσπάσεις, πρόωρη ρήξη εμβρυϊκών υμένων ή ανεπάρκεια του τραχήλου. Η αιματογενής και η διαπλακουντιακή μετάδοση της λοίμωξης δεν αποκλείονται, αν και είναι μάλλον σπανιότερο.



Διάγραμμα 4. Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί που οδηγούν σε πρόωρο τοκετό

Οι IL-1β και ο TNF-α φαίνεται να είναι οι πρώτες κυτταροκίνες που παράγονται ως αποτέλεσμα δράσης τόσο των λιποπολυσακχαριτών του τοιχώματος των μικροβίων, όσο και της ενδοτοξίνης που παράγουν κάποια Gram(-) μικρόβια. Και οι δύο αυτές πρωτεΐνες παράγονται από τα μακροφάγα του φθαρτού, από κύτταρα του χορίου, αλλά και από τροφοβλαστικά κύτταρα. Οι δύο αυτές κυτταροκίνες προκαλούν την παραγωγή προσταγλανδίνης E2 και F2α από τα ίδια κύτταρα αλλά και την παραγωγή ενδοθηλίνης. Η IL-1β φαίνεται να αυξάνει και την ευαισθησία του μυομητρίου στην οξυτοκίνη(159).

Η IL-6 παίζει συντονιστικό ρόλο στη φλεγμονή. Παράγεται από τα μακροφάγα του φθαρτού, αλλά και από κυτταροτροφοβλαστικά κύτταρα και αμνιακά κύτταρα ως απάντηση στην επίδραση της IL-1β και του TNF-α, ελέγχοντας, όμως, την έκκριση του τελευταίου. Αποτελεί φυσιολογικό συστατικό του αμνιακού υγρού, αλλά αυξάνεται δραματικά τόσο σε περιπτώσεις πρόωρου τοκετού, όσο και σε χοριοαμνιονίτιδα. Τελευταία στη διαδικασία φαίνεται να είναι η IL-8, η οποία παράγεται πάλι από όλες τις τάξεις κυττάρων μετά από επίδραση λιποπολυσακχαριτών της μεμβράνης των μικροβίων, TNF-α και IL-1β. Ο ρόλος της είναι κυρίως χημειοτακτικός, δηλαδή να προσελκύσει στην περιοχή της φλεγμονής ουδετερόφιλα και να τα ενεργοποιήσει. Η διαδικασία αυτή προκαλεί τελικά την απελευθέρωση κολλαγενάσης και ελαστάσης, που αποσυνδέουν και διασπούν τα ινίδια κολλαγόνου του τραχήλου, ενώ αυξάνουν και την τοπική παραγωγή υαλουρονικού οξέος, το οποίο με τη σειρά του θα αυξήσει την περιεκτικότητα σε νερό της διάμεσης ουσίας του τραχήλου. Και οι δύο αυτές διαδικασίες έχουν ως αποτέλεσμα να αποκτήσει τελικά ο τράχηλος μια πιο μαλακή υφή (159).

8. ΑΓΓΕΙΟΠΟΙΗΤΙΝΗ

Οι αγγειοποιητίνες είναι μέρος της οικογένειας των αγγειακών αυξητικών παραγόντων που παίζουν σημαντικό ρόλο στην εμβρυική αγγειογένεση (155, 156). Τα σήματα της αγγειοποιητίνης συσχετίζονται

κυρίως με την αγγειογένεση, τη διαδικασία με την οποία νέες αρτηρίες και φλέβες σχηματίζονται από προϋπάρχοντα κύτταρα του αίματος (157, 158).

Η αγγειογένεση εξελίσσεται μέσω της μετανάστευσης των ενδοθηλιακών κυττάρων, τον πολλαπλασιασμό και τη σταθεροποίηση και αποσταθεροποίηση των αγγείων (159,160). Οι αγγειοποιητίνες είναι υπεύθυνες για τη συναρμολόγηση και την αποσυναρμολόγηση του ενδοθηλίου στα αγγεία (161,162). Επιπλέον, οι αγγειοποιητίνες εμπλέκονται στον έλεγχο της μικροαγγειακής διαπερατότητας και της αγγειοδιαστολής – αγγειοσύσπασης, μέσω αποστολής σημάτων στα κύτταρα των λείων μυικών ινών που περιβάλλουν τα αγγεία (163-167).

Δομικά οι αγγειοποιητίνες αποτελούνται από ένα αμινο-τελικό άκρο, μια σπειροειδή περιοχή (coiled domain), ένα συνδέτη και μια καρβοξυ-τελική περιοχή που μοιάζει με το ινωδογόνο (fibrinogen related) και η οποία είναι υπεύθυνη για το δεσμό μεταξύ του συνδέτη και του υποδοχέα (168-170). Η σύνδεση με τον Tie-2 υποδοχέα, όπως αναφέραμε, γίνεται στο καρβοξυ-τελικό άκρο. Η ακριβής υπο-ομάδα δεν έχει διευκρινιστεί, όμως, αναλύοντας την περιοχή που μοιάζει με το ινωδογόνο, η υπο-ομάδα σύνδεσης βρίσκεται μάλλον στο μέσο του καρβοξυ-τελικού άκρου. Ο ρόλος των σπειροειδών περιοχών είναι να δημιουργούν ολιγομερή (171).

Το σύμπλεγμα της αγγειοποιητίνης με τον υποδοχέα της Tie-2 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αγγειογένεση τόσο σε φυσιολογικές, όσο και σε παθολογικές καταστάσεις, καθώς ρυθμίζει την ομοιόσταση, την ωρίμανση και την αναδιοργάνωση του αγγειακού δικτύου.

Οι αγγειοποιητίνες αρχικά ανακαλύφθηκαν σαν μόρια σύνδεσης με την οικογένεια των τυροσινικών υποδοχέων (Tie) που εκφράζονται επιλεκτικά στο αγγειακό ενδοθήλιο. Δύο είδη υποδοχέων αγγειοποιητίνης έχουν ταυτοποιηθεί, ο Tie-1 και ο Tie-2. Οι υποδοχείς αυτοί έχουν μεγάλη ομολογία αμινοξέων μεταξύ τους και εκφράζονται κυρίως στα ενδοθηλιακά κύτταρα(171).

Μέχρι σήμερα υπάρχουν 4 αναγνωρισμένες αγγειοποιητίνες (Ang-1, Ang -2, Ang -3, Ang -4). Επιπλέον, υπάρχει μια σειρά πρωτεϊνών οι οποίες σχετίζονται με τις αγγειοποιητίνες (AngPTL 2, 3, 4, 5, 6, 7). Κατά βάση, οι

αγγειοποιητίνες συνδέονται με τον Tie-2 υποδοχέα, αλλά υπό συγκεκριμένες συνθήκες συνδέονται και με τον Tie-1, ως τμήμα ενός ετεροδιμερούς συμπλέγματος. Από τις τέσσερις αγγειοποιητίνες έχουν μελετηθεί περισσότερο οι Ang-1 και Ang-2 οι οποίες συνδέονται με τον υποδοχέα με παρόμοια συγγένεια (171).

Η Ang-1 εκφράζεται κυρίως από τα περικύτταρα, τις ινοβλάστες και τα λεία μυϊκά κύτταρα και δρα στα ενδοθηλιακά κύτταρα με παρακρινικό τρόπο. Κατά τη σύνδεσή της με τον υποδοχέα, αυτός αυτοφωσφορυλιώνεται και προάγει τη μετανάστευση και επιβίωση των ενδοθηλιακών κυττάρων.

Η Ang-1 μπορεί να υπάρχει ως τριμερές, τετραμερές και πενταμερές. Αυτά τα ολιγομερή ομαδοποιούνται μεταξύ τους, σχηματίζοντας πολυμερικές δομές μέσω των αμινοτελικών τους άκρων. Η διαδικασία του πολυμερισμού είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση του υποδοχέα Tie-2. Παρ' όλα αυτά, η έκφραση του υποδοχέα σε μη ενδοθηλιακά κύτταρα ενεργοποιείται και από διμερή Ang-1, γεγονός που υποδηλώνει ότι στα ενδοθηλιακά κύτταρα υπάρχουν ρυθμιστές που απαιτούν ο συνδέτης να έχει μεγαλύτερη δομή για να είναι ενεργός (171-173).

Έχει βρεθεί ότι τα έμβρυα ποντικών με έλλειψη αγγειοποιητίνης -1 αναπτύσσουν ένα φαινομενικά υγιές πρωτογενές αγγειακό δίκτυο, το οποίο όμως, δεν μπορεί να υποστηρίξει τη σύνδεση με τον υποδοχέα. Κατ' επέκταση η αγγειοποιητίνη-1 δεν είναι αυτή που μεταφέρει το σήμα που θα καθοδηγήσει τη συγκεκριμένη αγγειακή αναδιάταξη, αλλά είναι αυτή που βελτιώνει τον τρόπο που τα ενδοθηλιακά κύτταρα αλληλεπιδρούν με τα γύρω στηρικτικά κύτταρα και τη θεμέλια ουσία (170). Τα ποντίκια, λοιπόν, με ανεπάρκεια Ang-1 και Tie-2 έχουν φαινότυπους που χαρακτηρίζονται από εμβρυϊκή θνητότητα με σοβαρές διαταραχές στο σχηματισμό και την ωρίμανση των αγγείων. Η Ang-1, λοιπόν, θεωρείται ότι σταθεροποιεί τα νεοαγγεία, προστατεύει την επαγόμενη από τον VEGF εξίδρωση του πλάσματος, έχει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και συσχετίζεται με την παρουσία ηωσινοφίλων (172).

Η Ang-2 παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα μετά από κατάλληλη ενεργοποίησή τους και η δράση της στα κύτταρα αυτά ποικίλλει σημαντικά

ανάλογα με το εάν δρα με αυτοκρινή ή παρακρινή τρόπο. Η φυσική μορφή της Ang-2 είναι διμερές ενωμένο με δισουλφιδικό δεσμό. Σε αντίθεση με την Ang-1, υπάρχει μικρός βαθμός πολυμερισμού της αγγειοποιητίνης 2. Αυτή η ανικανότητα της Ang-2 να σχηματίσει μεγαλύτερες δομές πολυμερών την εμποδίζει να ενεργοποιήσει τον Tie-2 υποδοχέα και έτσι δρα ως ένας ανταγωνιστής (171). Η Ang-2, λοιπόν, δεν είναι ικανή να επάγει την αυτοφωσφορυλίωση του Tie-2, και για αυτό, όπως αναφέραμε, φαίνεται να δρα ως φυσικός ανταγωνιστής της Ang-1, πληροφορία που προέκυψε από την παρατήρηση σε πειραματόζωα με υπερπαραγωγή Ang-2. Κυρίως δρα ως αποσταθεροποιητής των συνάψεων μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων και των περικυττάρων και προάγει την αγγειογένεση με την παρουσία ενεργοποιητών όπως ο VEGF, ενώ την καταστέλλει επί απουσίας τους. Έτσι οι Ang-1 και Ang-2 δεν έχουν πάντα αντίθετες δράσεις στον Tie-2 υποδοχέα αλλά κάτω από ορισμένες συνθήκες η Ang-2 είναι ικανή να τον ενεργοποιήσει και να επάγει την αγγειογένεση (172).

Η παρατήρηση του φαινότυπου γενετικά τροποποιημένων ποντικών ενισχύει την άποψη για τη δράση των Ang. Παρατηρήθηκε, λοιπόν, ότι Ang-1 και Tie-2 ανεπαρκή ποντίκια έχουν όμοιους φαινότυπους και πεθαίνουν κατά την εμβρυική ζωή, εξαιτίας προβλημάτων αγγειακής αναδόμησης. Επίσης, η εμβρυική υπερέκφραση της Ang-2 οδηγεί σε εμβρυικό θάνατο. Τα Ang-2 ανεπαρκή ποντίκια αναπτύσσονται κανονικά. Κατά τη γέννηση φαίνονται φυσιολογικά, αλλά πεθαίνουν μετά από 14 περίπου ημέρες εξαιτίας χυλώδους ασκίτη. Άρα, η Ang-2 δεν είναι απαραίτητη κατά την εμβρυική ανάπτυξη, αλλά η μεγάλη αύξησή της είναι επικίνδυνη. Μέσα από τα πειράματα αυτά, προέκυψε το συμπέρασμα ότι η Ang-2 δίνει το σήμα για την αποσταθεροποίηση των αγγείων και την αγγειογενετική αναδιάρθρωσή τους. Άρα, η παρουσία της Ang-2 στο ενδοθήλιο έχει την ικανότητα να περιορίζει τη σταθεροποιητική δράση της Ang-1 και να οδηγήσει τα ενδοθηλιακά κύτταρα σε μια κατάσταση πιο χαλαρή, όπως αυτή των αναπτυσσόμενων αγγείων. Εν τέλει, τα αγγεία αυτά είναι δυνατό να υποστραφούν, ελλείψει αγγειογενετικών παραγόντων ή να γίνουν πιο ευαίσθητα σε αλλαγές που επάγονται από άλλους αγγειογενετικούς παράγοντες, όπως ο VEGF (171,172).

Η μηχανιστική βάση των αντίθετων δράσεων των Ang-1 και Ang-2 παραμένει άγνωστη. Πιθανώς, δεν οφείλεται στον τρόπο σύνδεσης με τον υποδοχέα, αλλά σε άλλους παράγοντες που σχετίζονται με το κύτταρο-στόχο. Υπερπαραγωγή της Ang-2 έχει αναφερθεί κατά τη διάρκεια παθολογικής αγγειογένεσης και κυρίως σε όγκους. Εκφράζονται σε πλήθος συμπαγών όγκων, όπως το γλοίωμα εγκεφάλου, ο καρκίνος του προστάτη, το γαστρικό καρκίνωμα, ο μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα και ο καρκίνος του μαστού, ενώ σε κάποιες από αυτές τις περιπτώσεις έχουν και προγνωστική αξία. (170). Η Αγγειοποιητίνη-2 ανταγωνίζεται την Ang-1, αυξάνει την αγγειακή διαπερατότητα και ευνοεί τη εξίδρωση πλάσματος. Όπως αναφέραμε, η Ang-2 εκφράζεται αποκλειστικά στα ενδοθηλιακά κύτταρα, ενώ ανιχνεύεται στα κύτταρα του σαρκόματος Kaposi, καθώς και στα κύτταρα του αμφιβληστροειδούς. Το m-RNA της Ang-2 δεν ανιχνεύεται στο σταθερό ενδοθήλιο, αλλά αυξάνει σημαντικά κατά την ενεργοποίηση αυτού (173-178).

Η ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων προϋποθέτει τη γρήγορα δράση προ-σχηματισμένων και αποθηκευμένων μορίων Ang-2, σε συνεργασία με μια πιο αργή μεταφραστική διαδικασία ανταπόκρισης. Προσχηματισμένα μόρια αποθηκεύονται σε ειδικά ενδοθηλιακά κοκκία αποθήκευσης, τα οποία ονομάζονται σωμάτια Weibel-Palade (WPBs). Το βασικό συστατικό των σωμάτων αυτών είναι ο παράγοντας von-Willebrand (vWF). Επιπλέον, τα σωμάτια αυτά αποθηκεύουν και Il-8, ενδοθηλίνη, ενεργοποιητή πλασμινογόνου και άλλα συστατικά, τα οποία είναι μόρια που εμπλέκονται στον έλεγχο της γρήγορης ανταπόκρισης των ενδοθηλιακών κυττάρων στην αιμόσταση, τη φλεγμονή, την αιμοδυναμική αστάθεια, την ινωδολύση και τη διαπερατότητα του ενδοθηλίου.

8.1 Αγγειοποιητίνη και παθολογικές καταστάσεις

Η Ang-2 ως παράγοντας που επιδρά στην αγγειογένεση έχει γίνει το αντικείμενο πολλών μεγάλων ερευνητικών μελετών τις τελευταίες δεκαετίες και έχει συσχετισθεί με πολλά νοσήματα και με την έκβασή τους.

Σε πρόσφατες μελέτες αποδείχθηκε ότι τα μακροφάγα που σχετίζονται με τους κακοήθεις όγκους είναι σημαντικοί οδηγοί της

αγγειογένεσης στον καρκίνο. Ο υποδοχέας Tie-2 είναι παρόν στο αίμα αλλά και στους κακοήθεις όγκους. Ο συνδέτης του Tie-2, η Ang-2 παράγεται από τα αγγειογενετικά αγγεία του όγκου και έχει χημειοτακτικό ρόλο για τον Tie-2. Η υποξία αυξάνει την έκφραση του Tie-2 και κατά συνέπεια, μειώνει την anti-tumor δράση του. Η κατανόηση της ρύθμισης της δράσης της Ang-2 και του Tie-2 στο μικροπεριβάλλον του όγκου, μπορεί να οδηγήσει σε ανακάλυψη νέων μεθόδων κατάλυσης της αγγείωσης του όγκου (179).

Η έγκαιρη αναγνώριση και αντιμετώπιση της σήψης παραμένει η μεγαλύτερη πρόκληση στο χώρο της εντατικής θεραπείας. Ο τραυματισμός των αγγείων είναι το βασικό σημείο της σήψης, γεγονός που οδηγεί σε τριχοειδική διαφυγή, δυσλειτουργία της μικροκυκλοφορίας, οργανική ανεπάρκεια και τελικά θάνατο σε πολλούς ασθενείς στη Μ.Ε.Θ.. Η Ang-2 βρέθηκε σε αφθονία στους σηπτικούς ασθενείς, σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες. Στη μελέτη που έκαναν οι Kümpers και συνεργάτες συνέκριναν τα επίπεδα της Ang-2 με δείκτες ιστικής υποξίας, βαρύτητας και θνησιμότητας. Στην περίπτωση που η Ang-2 είναι ένας πρώιμος δείκτης σήψης, τότε η ρύθμιση του συστήματος Ang-2/Tie-2 θα αποτελεί θεραπευτικό στόχο για την αντιμετώπιση της σήψης (180).

Σε μια άλλη μελέτη συσχέτισαν τα οξέα στεφανιαία συμβάματα με την Ang-2. Στη μελέτη αυτή συνέλεξαν βιοψίες μυοκαρδίου από ισχαιμικές και μη περιοχές του μυοκαρδίου, κατά τη διάρκεια αορτοστεφανιαίας παράκαμψης σε ασθενείς με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου. Σε αυτά τα ιστοτεμάχια έγινε RT-PCR, όπου παρατηρήθηκε μεγάλη αύξηση της Ang-2 στα τεμάχια ισχαιμικού μυοκαρδίου, σε σχέση με άλλους αγγειογενετικούς παράγοντες, συσχετίζοντας με αυτόν τον τρόπο την Ang-2 με την αγγειογενετική απάντηση σε περιπτώσεις οξείας ισχαιμίας του μυοκαρδίου (181).

Οι Bartus και συνεργάτες, το 2011, συσχέτισαν την παρουσία της Ang-2 στα αποστήματα. Τα αποστήματα είναι επακόλουθο της λοίμωξης και μπορεί να εμφανιστούν σε οποιοδήποτε ιστό ή όργανο. Σε αυτήν την έρευνα έγινε *in situ* υβριδισμός σε 5 κύβους παραφίνης ιστοτεμαχίων με απόστημα, όπου και διεπιστώθη ότι υπήρχε αυξημένη έκφραση της Ang-2 στο τοίχωμα του αποστήματος. Η αυξημένη αυτή έκφραση μπορεί να οφείλεται στην

τριχοειδική διαρροή που παρατηρείται στην ψευδομεμβράνη του αποστήματος (182).

Σε μια άλλη μελέτη διερευνήθηκε η συμμετοχή της Ang-2 στη σηπτική διεργασία και το ρόλο των μονοκυττάρων, ως τόπο παραγωγής της στη σήψη. Μελετήθηκε η συγκέντρωση της Ang-2 στον ορό και τα υπερκείμενα των μονοκυττάρων 90 ασθενών με πνευμονία του αναπνευστήρα. Διεπιστώθη ότι η Ang-2 αυξάνει στο ορό των ασθενών με σηπτική καταπληξία και η αύξηση αυτή σχετίζεται με κακή πρόγνωση. Πιθανώς ένας παράγοντας μπορεί να κυκλοφορεί στον ορό ασθενών με σηπτική καταπληξία που ενεργοποιεί την έκφραση του γονιδίου και επομένως την παραγωγή της Ang-2 από τα μονοκύτταρα. (183,184)

Οι Avraham και συνεργάτες το 2014 συσχέτισαν την Ang-2 με τις μεταστάσεις στον εγκέφαλο από καρκίνο του μαστού. Διεπίστωσαν ότι η Ang-2 εμπλέκεται στα αρχικά στάδια της έναρξης της μετάστασης στο εγκέφαλο, ενώ οι αναστολείς της Ang-2 μπορεί να δράσουν ως αναστολείς στις περιπτώσεις αυτές (185).

Οι Buddingh και συνεργάτες το 2014, συσχέτισαν την Ang-2 με τη βαρύτητα της οξείας παγκρεατίτιδας και διεπίστωσαν ότι η πρώιμη αύξηση των επιπέδων της Ang-2 στο ορό των ασθενών με οξεία παγκρεατίτιδα σχετίζεται με αυξημένη βαρύτητα της νόσου και πολυοργανική ανεπάρκεια (186)

8.2 Αγγειοποιητίνη και κύηση

Καθώς η εμφύτευση και η εξέλιξη της κύησης σχετίζεται άμεσα με την αγγειογένεση, η μελέτη των αγγειοποιητινών εισήχθη γρήγορα στη διεθνή έρευνα και μεγάλες μελέτες έχουν αναλύσει τη δράση της κατά τη διάρκεια της κύησης. Η αγγειοποιητίνη έχει μελετηθεί αρκετά σε πολλές παθολογικές καταστάσεις της κύησης.

Το 2013 οι Aref και συνεργάτες στην προσπάθειά τους να αναλύσουν τον παθοφυσιολογικό μηχανισμό της προεκλαμψίας μελέτησαν τα επίπεδα της Ang-1, του VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) και του Tie-2 στον ορό γυναικών με φυσιολογικές κυήσεις, με προεκλαμψία και με μικρά για την

ηλικία γέννησης (SGA) νεογνά. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι γυναίκες με προεκλαμψία και SGA νεογνά είχαν υψηλότερα επίπεδα Ang-1 και VEGF στον ορό τους, σε σχέση με τις φυσιολογικές κυήσεις, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι οι κυκλοφορούσες αγγειοποιητίνες μπορεί να παίζουν σημαντικό ρόλο στην πρόγνωση και την πορεία της προεκλαμψίας (187).

Η συσχέτιση της Ang-2 με την προεκλαμψία ήταν αντικείμενο μελέτης και μιας άλλης ερευνητικής ομάδας στη Φινλανδία. Το 2013 οι Leinonen και συνεργάτες μέτρησαν τα επίπεδα της Ang-1, Ang-2, Tie-2 και του υποδοχέα του VEGF (VEGFR) στους ορούς γυναικών με φυσιολογικές κυήσεις και με υποκείμενη προεκλαμψία, κατά τη 12^η-15^η εβδομάδα της κύησης και κατά τη 16^η-20^η εβδομάδα. Το συμπέρασμα της έρευνας αυτής ήταν ότι η συγκέντρωση της Ang-2 στην ομάδα με προεκλαμψία ήταν αυξημένη από τα πρώιμα στάδια της κύησης (16η-20η εβδομάδα) (188).

Το 2013 μια ερευνητική ομάδα προσπάθησε να συσχετίσει τα επίπεδα της Ang-1 και Ang-2 με την έκτοπη κύηση και την αυτόματη αποβολή, στα πρώιμα στάδια της κύησης (6^η – 8^η εβδομάδα). Το συμπέρασμα της έρευνας ήταν ότι τα επίπεδα της αγγειοποιητίνης με μία μέτρηση, δε διέφεραν μεταξύ της ομάδας με αυτόματη αποβολή, σε σχέση με τις φυσιολογικές κυήσεις, όμως διέφερε ανάμεσα στην ομάδα με την έκτοπη κύηση και την αυτόματη αποβολή, γεγονός που θα μπορούσε να την καθιερώσει ως μέθοδο διαχωρισμού. (189)

Την ίδια χρονιά, οι Schneuer και συνεργάτες μελέτησαν τα επίπεδα της Ang-1, Ang-2 και το λόγο Ang-1/Ang-2 στο ορό γυναικών κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της κύησης και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο λόγος Ang-1/Ang-2 είναι κριτήριο που μαζί με τα κλινικά δεδομένα, συμβάλλει στην έγκαιρη πρόγνωση δυσμενούς μαιευτικού αποτελέσματος (πρόωρος τοκετός, αυτόματη αποβολή > 10w, προεκλαμψία, SGA νεογνά) (190).

Οι Wang και συνεργάτες συσχέτισαν τα επίπεδα της Ang-2 στον ορό γυναικών που υπεβλήθησαν σε διακοπή κύησης για θεραπευτικούς λόγους, κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της κύησης, σε συνδυασμό με τα επίπεδα της β-hCG. Τα δεδομένα οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι οι γυναίκες οι οποίες είχαν αυξημένη αιμορραγία μετά την τεχνητή εκβολή, είχαν

αυξημένα επίπεδα Ang-2 στον ορό τους, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. (191).

Η ίδια ερευνητική ομάδα το 2007 μελέτησε τα επίπεδα της Ang-2 στους ορούς γυναικών κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της κύησης και τα συσχέτισε με το τελικό περιγεννητικό αποτέλεσμα. Παρατήρησαν, λοιπόν, ότι τα επίπεδα της Ang-2 ήταν χαμηλότερα στις γυναίκες οι οποίες παρουσίασαν ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι η Ang-2 μπορεί στο μέλλον να αποτελέσει έναν πρώιμο δείκτη αναγνώρισης κυήσεων υψηλού κινδύνου (192).

Οι Woolnough και συνεργάτες έχουν κάνει μια σειρά μελετών για την Ang-2 και την κύηση. Συσχέτισαν την Ang-2 με την ανάπτυξη του πλακούντα, ενώ παρατήρησαν ότι η Ang-2 αυξάνει σημαντικά στον ορό γυναικών κατά τη διάρκεια του πρώτου τριμήνου της κύησης, όπου φτάνει στη μέγιστη τιμή, ενώ αυτή η αύξηση είναι σαφώς μικρότερη σε περιπτώσεις που επιπλέκονται με ενδομήτρια καθυστέρηση της ανάπτυξης. Παράλληλα, παρατήρησαν ότι η πηγή παραγωγής της Ang-2 decidual endothelial cells ενδοθηλιακά κύτταρα (DECs) και όχι από την κυτταροτροφοβλάστη (193).

Οι Pacora και συνεργάτες παρατήρησαν ότι υπάρχει μια συσχέτιση της διαδικασίας της φλεγμονής με την αγγειογένεση που επάγεται από τις αγγειοποιητίνες. Έτσι, προσπάθησαν να ερευνήσουν την παρουσία Ang-2 στο αμνιακό υγρό, τη συγκέντρωσή της κατά τη διάρκεια της κύησης και τη συσχέτισή της με την ενδο-αμνιακή λοίμωξη και τον πρόωρο τοκετό. Παρατήρησαν ότι η Ang-2 είναι συστατικό του αμνιακού υγρού και η συγκέντρωσή της μειώνεται καθώς η κύηση εξελίσσεται. Επιπλέον, διαπίστωσαν ότι η συγκέντρωση της Ang-2 είναι υψηλότερη σε ασθενείς με ενδο-αμνιακή λοίμωξη, ενώ ο αυτόματος τοκετός, στο τέλος της κύησης δε σχετίζεται με αλλαγές στη συγκέντρωση της Ang-2 (194).

Τη συσχέτιση της Ang-2 με την ενδο-αμνιακή λοίμωξη μελέτησαν και οι Catalin και συνεργάτες, οι οποίοι απέδειξαν ότι η Ang-1 και -2 είναι φυσιολογικά συστατικά του αμνιακού υγρού και ότι ο λόγος Ang-1/Ang-2 σχετίζεται με τη ρύθμιση της φλεγμονώδους απάντησης σε περιπτώσεις ενδο-αμνιακής λοίμωξης (195).

Οι Hurliman και συνεργάτες με τη σειρά τους έχοντας πειραματικά μοντέλα παρατήρησαν ότι οι ωοθήκες δε συνεισφέρουν σημαντικά στα κυκλοφορούντα επίπεδα αγγειοποιητίνης -1 και -2 (196).

Οι Guo και συνεργάτες έχοντας ένα πειραματικό κοντέλο κύησης ποντίκια (Kunming White) παρατήρησαν ότι η αγγειοποιητίνη -2 δεν ανιχνεύεται μέχρι την 5^η ημέρα κύησης, από την 6^η έως την 8^η παρατηρείται αύξηση, με μέγιστη τιμή την 8^η ημέρα. Σε ωοθηκεκτομηθέντα ποντίκια η συγκέντρωση της αγγειοποιητίνης αυξάνει μετά από χορήγηση οιστρογόνων, ενώ η χορήγηση προγεστερόνης προκαλεί μείωση, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι η αγγειοποιητίνη -2 παίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της φθαρτοποίησης (197)..

Οι Huber και συνεργάτες παρατήρησαν ότι η Ang-2 σχετίζεται με την παθογένεση κάποιων επιπλοκών κατά τη διάρκεια της κύησης. Μελέτησαν τον πολυμορφισμό του γονιδίου της Ang-2 (ANGPT2) σε περιπτώσεις αιφνίδιου ενδομήτριου θανάτου κατά τη διάρκεια του τρίτου τριμήνου της κύησης (198)

Οι Fox και συνεργάτες μελέτησαν τους αγγειογενετικούς παράγοντες σε μονοχοριακές κυήσεις και τους συσχέτισαν με το σύνδρομο εμβρυο-εμβρυικής μετάγγισης (twin – to – twin transfusion σύνδρομο - TTTS). Παρατήρησαν, λοιπόν, ότι η αγγειογενετική δραστηριότητα της μητέρας είναι μειωμένη σε περιπτώσεις TTTS συνδρόμου, καθώς η συγκέντρωση της Ang-1 είναι μειωμένη στον ορό της μητέρας και αυξημένη στο αμνιακό υγρό, ενώ η συγκέντρωση της Ang-2 είναι αυξημένη στον ορό της μητέρας (199,200).

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

9. Υλικά και Μέθοδοι

Μελέτη κοορτής

Πραγματοποιήθηκε προοπτική μελέτη στις εγκύους που παρακολουθούνται στη Γ'Μαιευτική & Γυναικολογική κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου «Αττικών» από το Μάρτιο του 2008 έως τον Ιούλιο του 2011. Η μελέτη είχε λάβει την έγκριση της επιτροπής βιοηθικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου «Αττικών». Ελήφθη γραπτή συγκατάθεση από τις γυναίκες που συμμετείχαν στη μελέτη. Η συλλογή του αίματος πραγματοποιήθηκε κατά τη 12^η εβδομάδα της κύησης (καθώς αυτές προσέρχονταν για τη μέτρηση της αυχενικής διαφάνειας και τον προσδιορισμό του σχετικού κινδύνου για χρωματοσωματικές ανωμαλίες κατά το πρώτο τρίμηνο της κύησης) από φλέβα των άνω άκρων υπό άσηπτες συνθήκες. Το αίμα συλλέγονταν σε αποστειρωμένα και ελεύθερα πυρετογόνων ουσιών φιαλίδια και φυγοκεντρούνταν. Ο ορός φυλάσσονταν στη συνέχεια στους -80°C μέχρι να επεξεργαστεί περαιτέρω. Αφού ολοκληρώθηκε η συλλογή του ορού αποφασίστηκε στη συνέχεια σε ποιους από τους ορούς θα προσδιορίζονταν η συγκέντρωση της Ang-2. Για όλες τις γυναίκες ήταν γνωστές οι πληροφορίες σχετικά με την εβδομάδα τερματισμού της κύησης. Αποφασίστηκε ότι στη μελέτη θα συμπεριλαμβάνονταν όλες οι γυναίκες που γέννησαν πρόωρα, ενώ ως ομάδα ελέγχου χρησιμοποιήθηκαν γυναίκες που γέννησαν τελειόμηνα και ταίριαζαν ως προς τον αριθμό τοκετών και την ηλικία με την ομάδα του πρόωρου τοκετού. Γυναίκες οι οποίες ήταν προσβεβλημένες από τον ιό της ηπατίτιδας B, της ηπατίτιδας C και του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας και είχαν λοίμωξη από κυτταρομεγαλοϊό και *Toxoplasma gondii* καθώς και όσες γυναίκες διεγνώσθησαν με εκλαμψία και προεκλαμψία αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

Η υπόθεση μελέτης ήταν ότι τα κυκλοφορούντα επίπεδα της Ang-2 θα ήταν μεγαλύτερα στο 20% των γυναικών που γέννησαν πρόωρα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Πενήντα γυναίκες γέννησαν πρόωρα στο ανωτέρω χρονικό διάστημα χωρίς να φέρουν κάποιο από τα κριτήρια αποκλεισμού. Προκειμένου να επιτευχθεί η υπόθεση μελέτης σε ισχύ 80% και για επίπεδο σημαντικότητας 10%, έπρεπε η ομάδα ελέγχου να περιλαμβάνει 88 γυναίκες τυχαιοποιημένες και συνταιριασμένες ως προς την ηλικία και τον αριθμό

τοκετών με τις γυναίκες της ομάδας μελέτης. Προκειμένου να επιλεγθούν οι 88 γυναίκες της ομάδας ελέγχου, όλες οι γυναίκες που γέννησαν τελειόμηνα ταξινομήθηκαν κατά χρονολογική σειρά λήψης του αίματος και μετά υποδιαιρέθηκαν σε ομάδες των 10. Οι γυναίκες με το νούμερο 2 από κάθε ομάδα των 10 αποτέλεσαν τη δεξαμενή από την οποία επιλέχθηκαν οι 88 γυναίκες ώστε να είναι συνταιριασμένες ως προς την ηλικία και τον αριθμό τοκετών με τις γυναίκες της ομάδας μελέτης. Για λόγους σύγκρισης, ελήφθη, επίσης, αίμα από 20 μη εγκύους υγιείς γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας. Η Ang-2 μετρήθηκε στον ορό με ανοσοαπορροφητική μέθοδο (R&D Inc, Minneapolis, USA) και το χαμηλότερο όριο ανίχνευσης ήταν 15pg/ml.

Πειραματικό μοντέλο

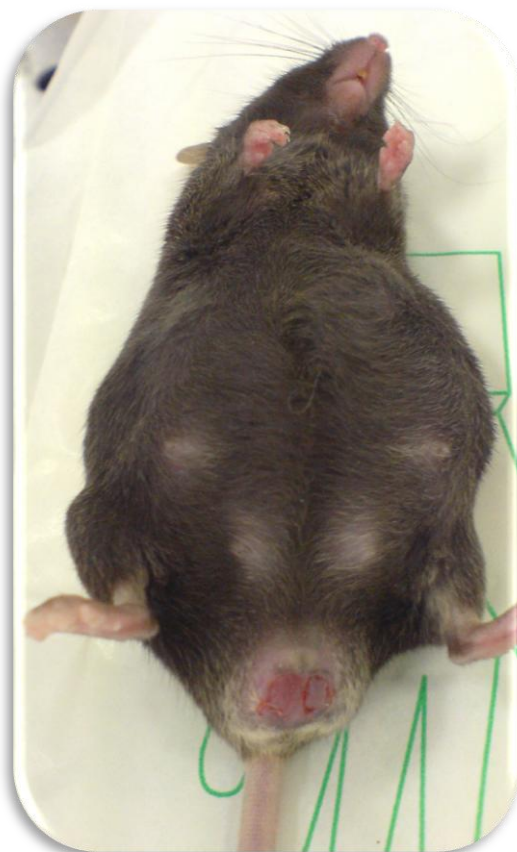
Η πειραματική μελέτη έλαβε έγκριση από την επιτροπή βιοηθικής πειραματικών χειρουργείων της κτηνιατρικής υπηρεσίας της νομαρχίας Αθηνών, σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία και τις κείμενες διατάξεις και σε συμφωνία με την οδηγία 160/1991 του Συμβουλίου της Ευρωπαϊκής Ένωσης (αριθμός άδειας: K/7167/27-10-2008). Προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί ο



Εικόνα 1. Θηλυκά ποντίκια C57BL/6J, ηλικίας 8-10 εβδομάδων

πόνος και η βάσανος των επίμυων, όλα τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν υπό ήπια αναισθησία με αιθέρα, ενώ υπόθετα παρακεταμόλης χορηγούνταν κάθε 12 ώρες για τις πρώτες 48 ώρες μετά τις ενδοπεριτοναϊκές εγχύσεις.

Οκτώ έως δέκα εβδομάδων C57BL/6 αρσενικοί και θηλυκοί επίμυες αγοράστηκαν από το Ινστιτούτο «Αλέξανδρος Φλέμιγκ» (Βάρη, Ελλάδα) και προ της έναρξης των πειραμάτων τους παρέχονταν χρονικό διάστημα 72 ωρών προκειμένου να εγκλιματιστούν. Οι επίμυες, μετά τον εγκλιματισμό τους, τοποθετούνταν σε κλουβιά με συνεχή ανακύκλωση αέρα (70 αλλαγές του αέρα ανά ώρα) προκειμένου να εξασφαλιστεί αποστειρωμένο περιβάλλον (IVC SYSTEM, Technicplast, Buruggiate, Ιταλία). Στους επίμυες παρέχονταν τυπική ξηρά τροφή (τύπου 4rf 18) και διέθεταν συνεχή παροχή νερού. Η θερμοκρασία δωματίου κυμαίνονταν μεταξύ 18 °C και 22°C, η σχετική



Εικόνα 2. Έγκυος επίμυς C57BL/6J, ηλικίας κύησης 21 ημερών με έμβρυο στον κόλπο

υγρασία μεταξύ 55% και 65% ενώ ο κύκλος ημέρας/νύχτας ήταν 12ωρος (6π.μ. – 6 μ.μ.).

Μελετήθηκε ένα μοντέλο πρόωρου τοκετού, όπως αυτό περιγράφεται σε προηγούμενη δημοσίευση της ερευνητικής μας ομάδας (201). Συνοπτικά, ένα ζεύγος επίμυων αφήνονταν στο ίδιο κλουβί για ένα βράδυ και στη συνέχεια οι θηλυκοί επίμυες με κολπικό βύσμα τοποθετούνταν σε ξεχωριστά



Εικόνα 3. Πρόωρο νεογνό επίμυων C57BL/6J, ηλικίας κύησης 15 ημερών.

κλουβιά και ζυγίζονταν καθημερινά. Η ηλικία κύησης καθορίζονταν από την ημέρα αναγνώρισης του κολπικού βύσματος, και η ημέρα αυτή ορίζονταν ως ημέρα 0 της κύησης. Οι θηλυκοί επίμυες οι οποίοι δεν γονιμοποιούνταν δεν χρησιμοποιούνταν ξανά για αυτό το πείραμα. Την 14,5^η ημέρα μετά την αναγνώριση του κολπικού βύσματος (αντιστοιχεί στο 75% της συνολικής διάρκειας κύησης των επίμυων, που είναι 19-21 ημέρες), οι επίμυες αναισθητοποιούνταν με μετοφάνη [methoxyflurane 2,2-dichloro-1,1 difluoroethyl methyl ether σε butylated hydroxyltoluene (0,01% w/w)] και στη συνέχεια τους χορηγούνταν ενδοπεριτοναϊκά κεκαθαρμένος λιποπολυσακχαρίτης της *Escherichia coli* ορότυπου 055:B5 (Sigma Chemical Co., St Louis, MO), ο οποίος ήταν διαλυμένος σε ενέσιμο ύδωρ (Βιοσέρ Α.Ε., Αθήνα, Ελλάδα) σε συγκέντρωση 1mg/ml. Το διάλυμα αυτό αφού παρασκευάζονταν είτε χορηγούνταν άμεσα ή τοποθετούνταν άμεσα στην κατάψυξη για μελλοντική χρήση. Τα πειραματόζωα αναισθητοποιούνταν για να αποφευχθεί ο τραυματισμός της ουροδόχου κύστεως ή της μήτρας κατά τη

διάρκεια της ενδοπεριτοναϊκής χορήγησης του διαλύματος. Επιπλέον, με τη βοήθεια της αναισθησίας το stress στο οποίο υποβάλλονταν ήταν λιγότερο.

Πραγματοποιήθηκαν προκαταρκτικά πειράματα με ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση LPS σε δόσεις που κυμαίνονταν από 10 έως 2000μg/kg με σκοπό να καθορίσουμε την ελάχιστη δόση που οδηγεί σε πρόωρο τοκετό χωρίς να προκαλεί παρενέργειες. Τελικά, διαπιστώσαμε ότι με δόση LPS 50μg/ποντίκι



Εικόνα 4. Επίμυς C57BL/6J, ηλικίας κύησης 15 ημερών

(~2μg/kg) επιτυγχάνονταν πρόωρος τοκετός σε όλα τα πειραματόζωα εντός 15-22 ωρών. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν 12 επίμυες που όλοι γέννησαν 15 έως 22 ώρες μετά την έγχυση του LPS, τα έμβρυα γεννήθηκαν όλα ζωντανά, ενώ καμιά από τις μητέρες δεν πέθανε. Για το λόγο αυτό, επιλέχθηκε αυτή η δόση για όλα τα πειράματα. Τα πειραματόζωα παρακολουθούνταν κάθε 4 ώρες, για το πρώτο 12ωρο μετά τη χορήγηση του LPS και ακολούθως συνεχόμενα μέχρι την ώρα το τοκετού. Ο πρόωρος τοκετός ορίστηκε ως η παρουσία τουλάχιστον ενός εμβρύου στο κλουβί ή στον κόλπο μέσα στο πρώτο 24ωρο από τη χορήγηση του LPS. Η κοιλιακή

αιμόρροια από μόνη της δε θεωρήθηκε απόδειξη τοκετού. Μετά τη χορήγηση του LPS τα πειραματόζωα δεν παρουσίασαν καμία σοβαρή ασθένεια.

Οι έγκυοι επίμυες ταξινομήθηκαν τυχαία στις ακόλουθες ομάδες, ενώ όλες οι χειρουργικές επεμβάσεις πραγματοποιήθηκαν υπό αναισθησία με αιθέρα:

- **Ομάδα Α** (ελέγχου, n=16). Σε αυτούς τους επίμυες χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά 100μl ενέσιμου ύδατος τη 14,5^η ημέρα μετά την εμφάνιση τραχηλικού βύσματος. Ακολούθως, 2 ώρες αργότερα εγχέονταν ενδοπεριτοναϊκά ακόμη 100μl ενέσιμου ύδατος.

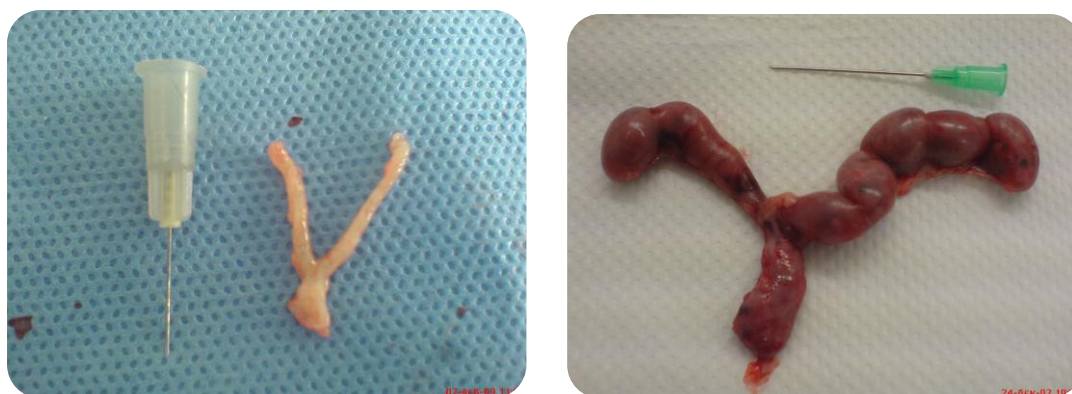
- **Ομάδα Β** (LPS, n=16). Σε αυτούς τους επίμυες χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά 100μl ενέσιμου ύδατος τη 14,5^η ημέρα μετά την εμφάνιση τραχηλικού βύσματος. Ακολούθως, 2 ώρες αργότερα εγχέονταν ενδοπεριτοναϊκά 2mg/kg LPS διαλυμένα σε 100μl ενέσιμου ύδατος.

- **Ομάδα C** (Ang-2, n=16). Σε αυτούς τους επίμυες χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά 3.75mg ανθρώπινης ανασυνδυασμένης Ang-2 (R&D Inc., Μιννεάπολη, ΗΠΑ) διαλυμένη σε 100μl ενέσιμου ύδατος τη 14,5^η ημέρα μετά την εμφάνιση τραχηλικού βύσματος. Η επιλογή της δόσης της ANG-2 έγινε με βάση προηγούμενες μελέτες από την ομάδα μας⁶. Ακολούθως, 2 ώρες αργότερα εγχέονταν ενδοπεριτοναϊκά ακόμη 100μl ενέσιμου ύδατος.

- **Ομάδα D** (Ang-2 + LPS, n=16). Σε αυτούς τους επίμυες χορηγήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά 3.75mg ανθρώπινης ανασυνδυασμένης Ang-2 (R&D Inc., Μιννεάπολη, ΗΠΑ) διαλυμένη σε 100μl ενέσιμου ύδατος τη 14,5^η ημέρα μετά την εμφάνιση τραχηλικού βύσματος. Ακολούθως, 2 ώρες αργότερα εγχέονταν ενδοπεριτοναϊκά 2mg/kg LPS διαλυμένα σε 100μl ενέσιμου ύδατος.

Έξι θηλυκοί επίμυες από την κάθε ομάδα παρακολουθούνταν στενά κάθε δύο ώρες, προκειμένου να καταγραφούν οι τοκετοί συνολικά έως 168 ώρες μετά τη χορήγηση της LPS. Οι υπόλοιποι επίμυες θυσιάζονταν 12 ώρες μετά την έγχυση της LPS. Ειδικότερα, τα πειραματόζωα αναισθητοποιούνταν με μετοφάνη όταν εμφανίζονταν κλινικά σημεία τοκετού, όπως είναι η διαστολή του τραχήλου ή κολπική αιμόρροια (10-12 ώρες μετά τη χορήγηση της LPS). Μέσω μιας μέσης κάθετης τομής στο κοιλιακό τοίχωμα, περίπου 2εκ, ανοίγονταν η περιτοναϊκή κοιλότητα και το λεπτό και παχύ έντερο

παραμερίζονταν προς τα αριστερά, ώστε να αποκαλυφθεί η κάτω κοίλη φλέβα. Αρχικά, καταγράφονταν η απορρόφηση του Evans blue από τους ιστούς. Η κοιλιακή αορτή παρακεντούνταν κάτω από άσηπτες συνθήκες και 3ml Evans blue (AlterChem Co, Αθήνα, Ελλάδα) χορηγούνταν εντός 5 λεπτών. Δέκα λεπτά μετά τη χορήγηση του Evans blue ακολουθούσαν επαναλαμβανόμενες εγχύσεις διαλύματος χλωριούχου νατρίου 0.9% μέχρι τη θυσία του επίμους. Ο δεξιός νεφρός και ο δεξιός πνεύμονας του επίμους αφαιρούνταν, όπως και όλα τα έμβρυα με τους πλακούντες τους. Προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η βόσσανος των πειραματοζώων, ακολουθούσε ευθανασία με χορήγηση ενδομυϊκά 5mg/kg κεταμίνης.



Εικόνα 5. Μη εγκυμονούσα μήτρα και εγκυμονούσα μήτρα ηλικίας κύησης 15 ημερών επίμους C57BL/6J,

Οι ιστοί στη συνέχεια ομογενοποιούνταν και φυγοκεντρούνταν. Η οπτική πυκνότητα των υπερκείμενων μετρούνταν στα 450nm. Στην επόμενη σειρά πειραμάτων, μετά τη θυσία των επίμυων όλο το αίμα τους συλλέγονταν παρακεντώντας την κοιλιακή αορτή σε στείρα και ελεύθερα πυρετογόνων ουσιών φιαλίδια. Το αίμα ακολούθως φυγοκεντρούνταν και τα υπερκείμενα αποθηκεύονταν στους -70°C. στην ίδια σειρά πειραμάτων όλα τα έμβρυα με τους πλακούντες τους αφαιρούνταν και ζυγίζονται. Στους ιστούς προστίθετο ένα ml στείρου διαλύματος χλωριούχου νατρίου και ομογενοποιούνταν σε χειρόμυλους. Το ομογενοποιημένο υλικό που προέκυπτε φυγοκεντρούνταν

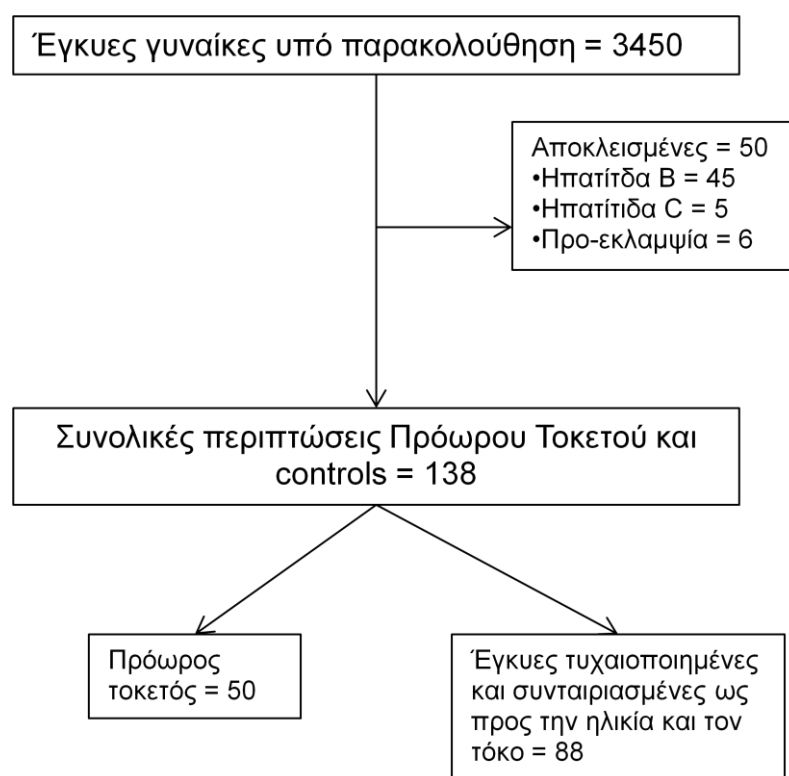
και αποθηκεύονταν στους -70°C . Οι συγκεντρώσεις του TNFα μετρούνταν δύο φορές στα δείγματα από τον ορό των επίμυων και στα υπερκείμενα μέσω ενζυματικής ανοσοαπορροφητικής μεθόδου (R&D). Το ελάχιστο όριο ανίχνευσης ήταν τα 15pg/ml. Τα αποτελέσματα όσον αφορά τους ιστούς εκφράζονταν σε pg ανά gr ιστού, μετά από προσαρμογή ως προς το βάρος του ιστού.

Στατιστική ανάλυση

Τα ποσοτικά δημογραφικά χαρακτηριστικά των γυναικών εκφράστηκαν ως μέσες τιμές $\pm\text{SD}$, ενώ οι συγκρίσεις έγιναν με τη δοκιμασία t-test. Οι τιμές της Ang-2 στον ορό των γυναικών εκφράστηκαν ως διάμεσες τιμές με διάστημα εμπιστοσύνης (CI) 95%. Οι συσχετίσεις της Ang-2 στον ορό μεταξύ των ομάδων έγινε με τη δοκιμασία των Kruskal Wallis μετά από προσαρμογή για πολλαπλές συγκρίσεις κατά Bonferroni. Προκειμένου να προσδιοριστεί η συγκέντρωση της Ang-2 με αρνητική προγνωστική αξία άνω του 80% για την πρόβλεψη του πρόωρου τοκετού μέχρι την 34^η εβδομάδα κύησης εφαρμόστηκε η καμπύλη λειτουργικών χαρακτηριστικών (Receiver Operator Curve, ROC). Ο σχετικός κίνδυνος (Odds Ratio, OR) και το 95% διάστημα εμπιστοσύνης προσδιορίστηκαν από τη στατιστική ανάλυση των Mantel και Haenzel. Ο χρόνος του τοκετού μετά τη χορήγηση της LPS στους επίμυες προσδιορίστηκε από την ανάλυση κατά Kaplan-Meyer. Οι συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων έγιναν με έλεγχο λογαριθμικών βαθμίδων (log-rank test). Οι συγκεντρώσεις του Evans blue και του TNFα εκφράστηκαν ως μέσες τιμές $\pm\text{SE}$. Οι συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων πραγματοποιήθηκαν με ανάλυση της διακύμανσης (ANOVA) με post-hoc ανάλυση κατά Bonferroni για την αποφυγή τυχαίας συσχέτισης. Κάθε τιμή του P κάτω από 0,05 θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική.

10. Αποτελέσματα

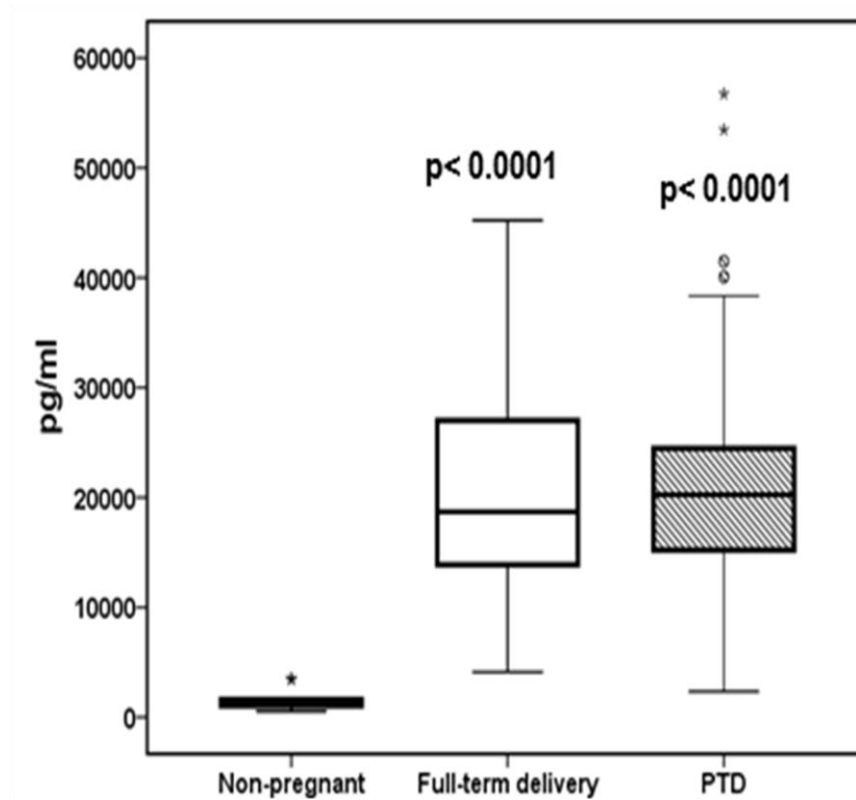
Το διάγραμμα ροής της μελέτης παρουσιάζεται στην εικόνα 6. Από το σύνολο 3450 εγκύων γυναικών που ελέγχθηκαν, περιελήφθησαν στη μελέτη 138. 50 από αυτές γέννησαν πρόωρα και 88 τελειόμηνες. Η μέση $\pm$ SD ηλικία των γυναικών που γέννησαν πρόωρα ήταν 32.2 ± 2.9 έτη, ενώ των τελειόμηνων γυναικών 31.9 ± 3.7 ($p = 0.794$). Ο μέσος τόκος $\pm$ SD ήταν 1.5 ± 0.7 και 1.6 ± 0.7 , αντίστοιχα ($p = 0.512$). Η μέση ηλικία $\pm$ SD των 20 μη έγκυων υγιών γυναικών ήταν 30.9 ± 4.9 έτη. Σε καμία από τις γυναίκες που γέννησαν πρόωρα δε διεγνώσθη κάποια υποκείμενη λοίμωξη.



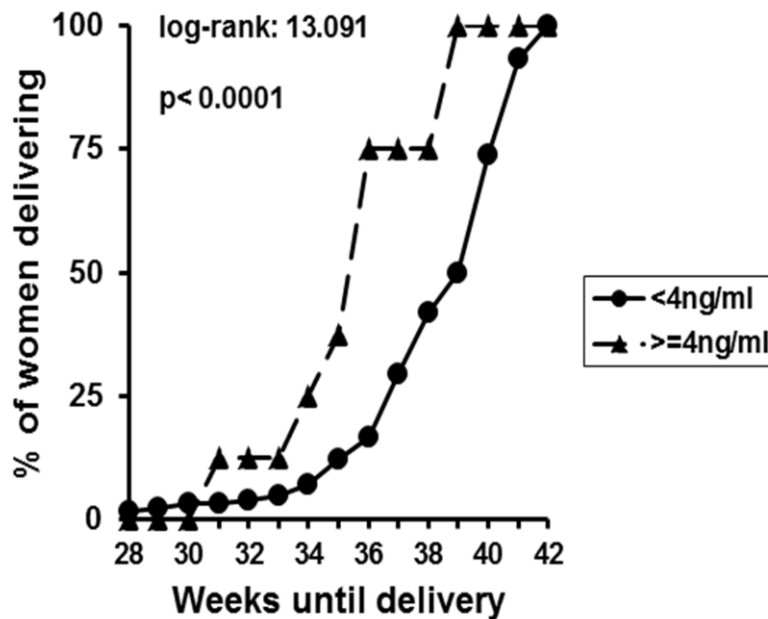
Εικόνα 6. Διάγραμμα ροής

Τα επίπεδα της κυκλοφορούσας Ang-2 στον ορό των εγκύων γυναικών ήταν υψηλότερα σε σχέση με τις μη εγκύους (εικόνα 7). Δε διαπιστώθηκε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των γυναικών που γέννησαν πρόωρα σε σχέση με αυτές που γέννησαν τελειόμηνες. Από τη ROC ανάλυση προέκυψε ότι επίπεδα της Ang-2 υψηλότερα του 4ng/ml εμφάνιζαν αρνητική προγνωστική αξία 82.2% στην πρόβλεψη του πρόωρου τοκετού. Οι γυναίκες με τέτοιες υψηλές τιμές Ang-2 γενούσαν πρωιμότερα σε

σχέση με τις γυναίκες που είχαν χαμηλότερα επίπεδα Ang-2 (εικόνα 8). Ο OR για πρόωρο τοκετό πριν τις 34 εβδομάδες κύησης με τιμές Ang-2 άνω των 4ng/ml ήταν 4.61 (95% CI: 1.07-19.79; $p=0.040$).

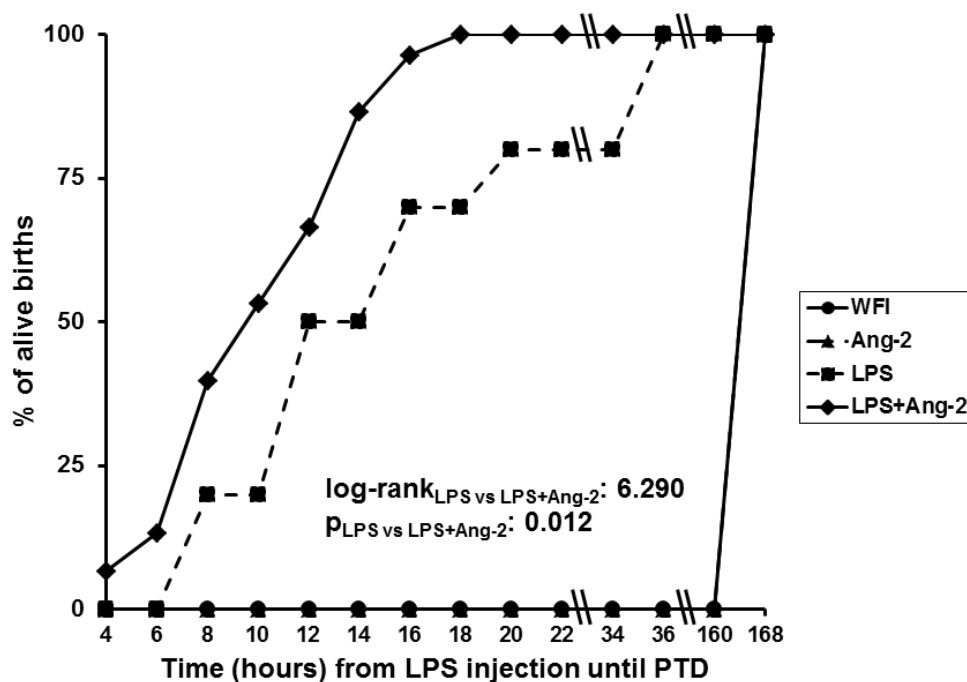


Εικόνα 7. Συγκεντρώσεις της Ang-2 στη διάρκεια της κύησης επίπεδα της Ang- 2 κατά τη 12η εβδομάδα της κύησης σε: 50 γυναίκες που γέννησαν πρόωρα, 88 που γέννησαν τελειόμηνες και 20 υγιείς μη-έγκυες γυναίκες. Παρέχεται το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας p για συγκρίσεις μεταξύ γυναικών με τιμές Ang-2 ορού άνω και κάτω των 4ng/ml.



Εικόνα 8. Συγκεντρώσεις της Ang-2 στη διάρκεια της κύησης. Χρονικό διάστημα μέχρι τον τοκετό σε σχέση με τα επίπεδα της Ang-2 κατά τη 12η εβδομάδα της κύησης. Παρέχεται το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας p για συγκρίσεις μεταξύ γυναικών με τιμές Ang-2 ορού άνω και κάτω των 4ng/ml.

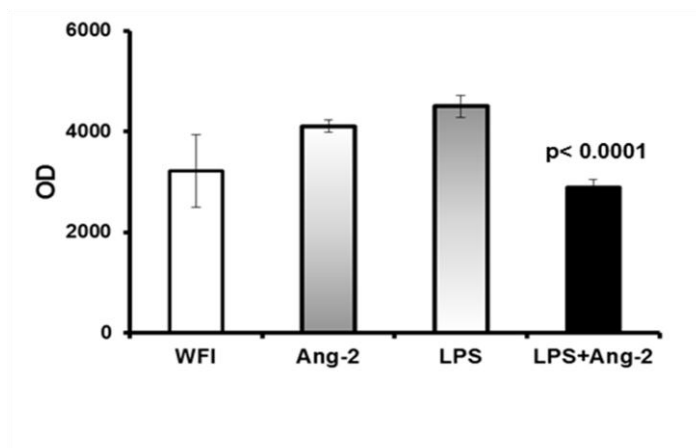
Αυτά τα ευρήματα μας οδήγησαν στο να διερευνηθεί περαιτέρω ο μηχανισμός με τον οποίο οι αυξημένες τιμές της Ang-2 συμβάλλουν στον πρόωρο τοκετό. Στο πλαίσιο αυτό μελετήσαμε την επίδραση της έγχυσης Ang-2 σε ένα πειραματικό μοντέλο πρόωρου τοκετού που προκαλείται από τη χορήγηση LPS. Η χορήγηση Ang-2 δύο ώρες πριν από την έγχυση της LPS είχε ως αποτέλεσμα την επιτάχυνση του πρόωρου τοκετού, σε σχέση με τις περιπτώσεις που χορηγούνταν μόνο LPS ($p=0.012$, εικόνα 9). Αντίθετα, η έγχυση Ang-2 2 ώρες πριν από την χορήγηση ενέσιμου ύδατος (ομάδα Β) δε μετέβαλλε το χρόνο έλευσης του πρόωρου τοκετού, σε σχέση με όταν χορηγούνταν μόνο ενέσιμο ύδωρ (ομάδα Α) ($p=1.000$, ομάδα Α έναντι ομάδας Β).



Εικόνα 9. Η Ang-2 επιταχύνει τον πρόωρο τοκετό (PTD). Σε θηλυκούς εγκύους επίμυες χορηγήθηκε κατά τη 14,5^η ημέρα της κύησης ενέσιμο ύδωρ (water for injection (WFI), ομάδα A, n=6), με ανασυνδυασμένη ανθρώπινη αγγειοποιητίνη-2 (Ang-2 ομάδα B, n=6), με λιποπολυσακχαρίτη της *Escherichia coli* O55:B5 (LPS, n=6) και με Ang-2 και στη συνέχεια LPS (Ang-2+LPS, n=6). Το χρονικό διάστημα μέχρι τον τοκετό καταγράφονταν ανά δύο ώρες μετά τη χορήγηση του LPS. Η στατιστική ανάλυση μετά από διόρθωση για πολλαπλές συσχετίσεις κατά Bonferroni έχει ως εξής: log-rank WFI vs LPS: 13.679, p: 0.000217; log-rank WFI vs LPS+Ang-2: 15.251, p: 0.000094; log-rank LPS vs LPS+Ang-2: 6.290, p: 0.012

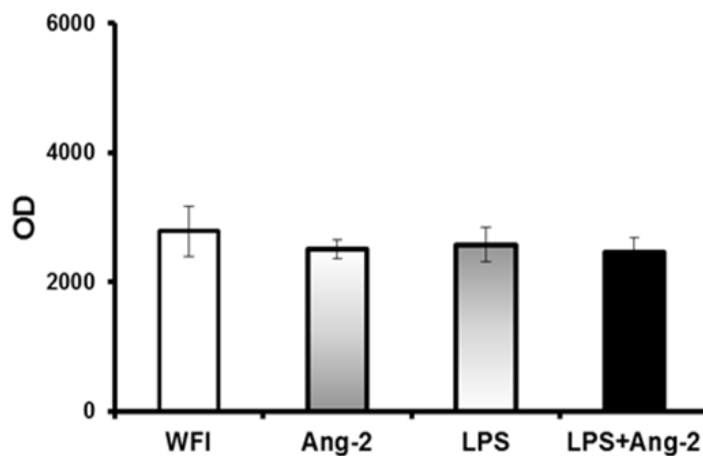
Με βάση αυτά τα δεδομένα, υποθέσαμε δύο διαφορετικούς μηχανισμούς με τους οποίους η Ang-2 πιθανόν επιταχύνει τον πρόωρο τοκετό που επάγεται από την LPS: είτε επηρεάζοντας την αγγειακή διαπερατότητα είτε επηρεάζοντας τη διάδραση ανάμεσα στην LPS και τον TNFα. Η υπόθεση για την ύπαρξη κάποιας δράσης επί της αλληλεπίδρασης του LPS με τον

TNFα βασίστηκε στα ευρήματα από προηγούμενες ερευνητικές προσπάθειες (202,203). Προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση στην



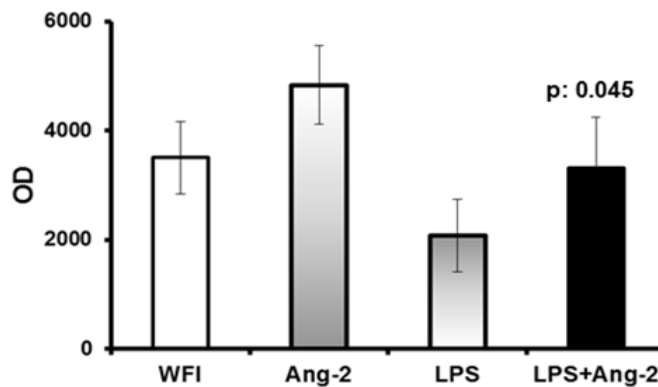
Εικόνα 10. Διάχυση Evans blue στους ιστούς. Σε θηλυκούς εγκύους επίμυες χορηγήθηκε κατά τη 14,5^η ημέρα της κύησης ενέσιμο ύδωρ (water for injection (WFI), ομάδα A, n=5), με ανασυνδυασμένη ανθρώπινη αγγειοποιητίνη-2 (Ang-2 ομάδα B, n=5), με λιποπολυσακχαρίτη της *Escherichia coli* O55:B5 (LPS, n=5) και με Ang-2 και στη συνέχεια LPS (Ang-2+LPS, n=7). Μία ημέρα μετά τη χορήγηση LPS οι επίμυες θυσιάζονταν. Το Evans blue μετρούταν στα έμβρυα (A). Οι τιμές p υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στην ομάδα με LPS και την ομάδα με LPS+Ang-2.

αγγειακή διαπερατότητα μετρήθηκε η συγκέντρωση του Evans blue στα έμβρυα, τους πλακούντες καθώς και στα όργανα της μητέρας. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν ότι η συγκέντρωση του Evans blue στα έμβρυα της ομάδας D ήταν σημαντικά χαμηλότερη σε σχέση με την ομάδα C ($p < 0,0001$, εικόνα 10). Ωστόσο, η συγκέντρωση στους πλακούντες δε διέφερε σημαντικά (εικόνα 11).

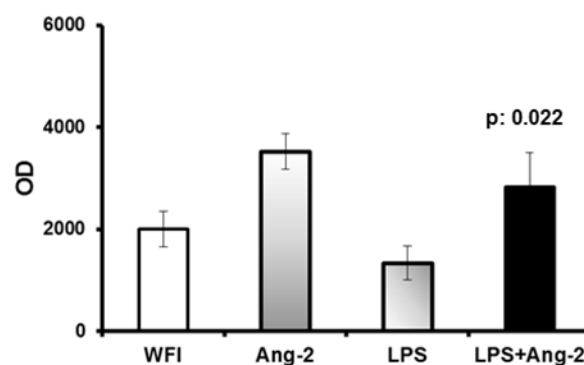


Εικόνα 11. Διάχυση Evans blue στους ιστούς. Σε θηλυκούς εγκύους επίμυες χορηγήθηκε κατά τη 14,5^η ημέρα της κύησης ενέσιμο ύδωρ (water for injection (WFI), ομάδα A, n=5), με ανασυνδυασμένη ανθρώπινη αγγειοποιητίνη-2 (Ang-2 ομάδα B, n=5), με λιποπολυσακχαρίτη της *Escherichia coli* O55:B5 (LPS, n=5) και με Ang-2 και στη συνέχεια LPS (Ang-2+LPS, n=7). Μία ημέρα μετά τη χορήγηση LPS οι επίμυες θυσιάζονταν. Το Evans blue μετρούνταν στους πλακούντες (B). Οι τιμές p υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στην ομάδα με LPS και την ομάδα με LPS+Ang-2.

Αντίθετα, η συγκέντρωση του Evans blue στους νεφρούς και τους πνεύμονες των μητέρων της ομάδας D ήταν υψηλότερη σε σχέση με της ομάδας C (εικόνες 12 και 13). Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν σαφείς μεταβολές στην αγγειακή διαπερατότητα που οδηγούν σε μειωμένη αιμάτωση των εμβρύων της ομάδας D σε σχέση με της ομάδας C, ως μέρος του μηχανισμού δράσης της Ang-2.



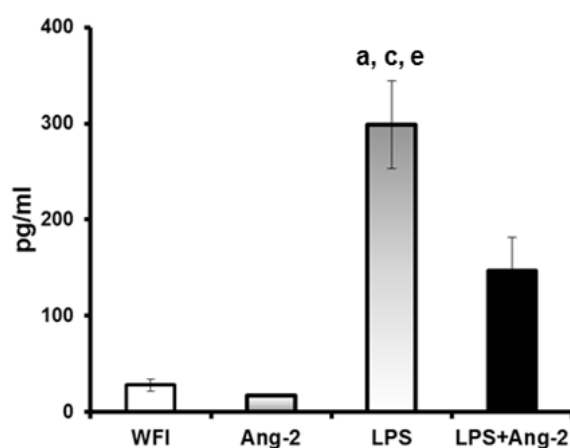
Εικόνα 12. Διάχυση Evans blue στους ιστούς. Σε θηλυκούς εγκύους επίμυες χορηγήθηκε κατά τη 14,5^η ημέρα της κύησης ενέσιμο ύδωρ (water for injection (WFI), ομάδα A, n=5), με ανασυνδυασμένη ανθρώπινη αγγειοποιητίνη-2 (Ang-2 ομάδα B, n=5), με λιποπολυσακχαρίτη της *Escherichia coli* O55:B5 (LPS, n=5) και με Ang-2 και στη συνέχεια LPS (Ang-2+LPS, n=7). Μία ημέρα μετά τη χορήγηση LPS οι επίμυες θυσιάζονταν. Το Evans blue μετρούταν στους νεφρούς των μητέρων (C). Οι τιμές p υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στην ομάδα με LPS και την ομάδα με LPS+Ang-2.



Εικόνα 13. Διάχυση Evans blue στους ιστούς. Σε θηλυκούς εγκύους επίμυες χορηγήθηκε κατά τη 14,5^η ημέρα της κύησης ενέσιμο ύδωρ (water for injection (WFI), ομάδα A, n=5), με ανασυνδυασμένη ανθρώπινη αγγειοποιητίνη-2 (Ang-2 ομάδα B, n=5), με λιποπολυσακχαρίτη της *Escherichia coli* O55:B5 (LPS, n=5) και με Ang-2 και στη συνέχεια LPS (Ang-2+LPS, n=7). Μία ημέρα μετά τη χορήγηση LPS οι επίμυες θυσιάζονταν. Το Evans blue μετρούταν στους πνεύμονες των μητέρων (D). Οι τιμές p υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στην ομάδα με LPS και την ομάδα με LPS+Ang-2.

Αντίθετα, η συγκέντρωση του Evans blue στους νεφρούς και τους πνεύμονες των μητέρων της ομάδας D ήταν υψηλότερη σε σχέση με της ομάδας C (εικόνες 12 και 13). Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν σαφείς μεταβολές στην αγγειακή διαπερατότητα που οδηγούν σε μειωμένη αιμάτωση των εμβρύων της ομάδας D σε σχέση με της ομάδας C, ως μέρος του μηχανισμού δράσης της Ang-2.

Η προθεραπεία με Ang-2 συνοδευόταν από μία ισχυρή αντιφλεγμονώδη αντίδραση. Ειδικότερα, τα επίπεδα του TNFα στον ορό των μητέρων, όπως και στους ιστούς ήταν σημαντικά χαμηλότερα στα έμβρυα και τους πλακούντες της ομάδας D σε σχέση με της ομάδας C (εικόνα 14-16).



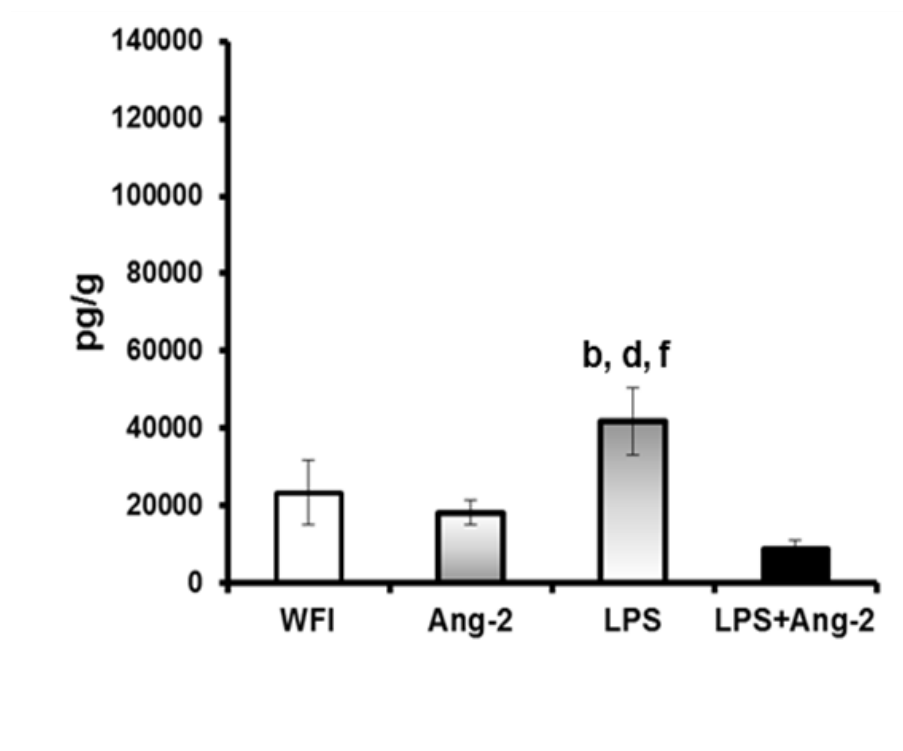
Εικόνα 14. Η επίδραση της Ang-2 στα επίπεδα του TNFα. Σε θηλυκούς εγκύους επίμυες χορηγήθηκε κατά τη 14,5^η ημέρα της κύησης ενέσιμο ύδωρ (water for injection (WFI), ομάδα A, n=5), με ανασυνδυασμένη ανθρώπινη αγγειοποιητίνη-2 (Ang-2 ομάδα B, n=5), με λιποπολυσακχαρίτη της *Escherichia coli* O55:B5 (LPS, n=5) και με Ang-2 και στη συνέχεια LPS (Ang-2+LPS, n=7). Μία ημέρα μετά τη χορήγηση LPS οι επίμυες θυσιάζονταν. Μετρούνταν η συγκέντρωση του TNFα στον ορό των μητέρων (A),

Τιμές p για τις συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων:

Σύγκριση LPS έναντι WFI ^ap<0.0001

Σύγκριση LPS έναντι Ang-2 ^cp<0.0001;

Σύγκριση LPS έναντι LPS+Ang-2 ^ep<0.0001;



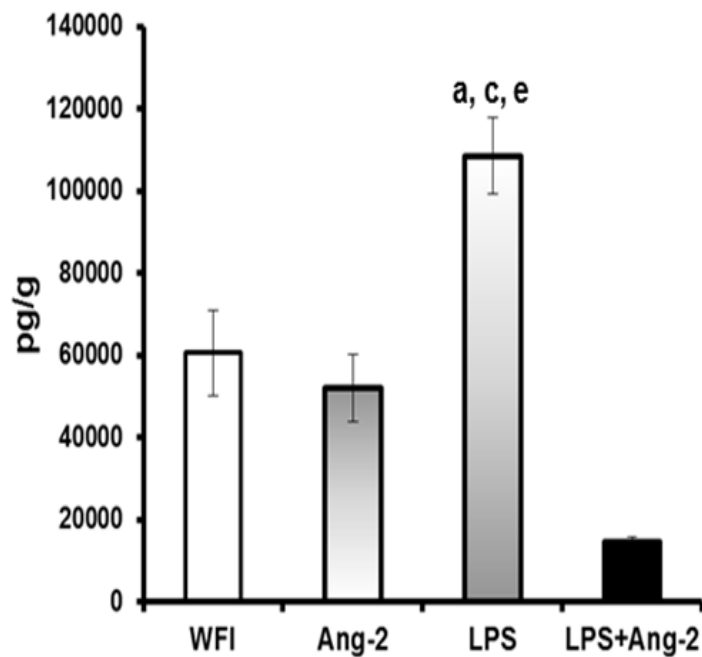
Εικόνα 15. Η επίδραση της Ang-2 στα επίπεδα του TNFα. Σε θηλυκούς εγκύους επίμυες χορηγήθηκε κατά τη 14,5^η ημέρα της κύησης ενέσιμο ύδωρ (water for injection (WFI), ομάδα A, n=5), με ανασυνδυασμένη ανθρώπινη αγγειοποιητίνη-2 (Ang-2 ομάδα B, n=5), με λιποπολυσακχαρίτη της *Escherichia coli* O55:B5 (LPS, n=5) και με Ang-2 και στη συνέχεια LPS (Ang-2+LPS, n=7). Μία ημέρα μετά τη χορήγηση LPS οι επίμυες θυσιάζονταν. Μετρούνταν η συγκέντρωση του TNFα στα ομογενοποιημένα έμβρυα (B).

Τιμές p για τις συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων:

Σύγκριση LPS έναντι WFI; ^b p:0.012

Σύγκριση LPS έναντι Ang-2 ^d p:0.006

Σύγκριση LPS έναντι LPS+Ang-2 ^f p:0.006



Εικόνα 16. Η επίδραση της Ang-2 στα επίπεδα του TNFα. Σε θηλυκούς εγκύους επίμυες χορηγήθηκε κατά τη 14,5^η ημέρα της κύησης ενέσιμο ύδωρ (water for injection (WFI), ομάδα A, n=5), με ανασυνδυασμένη ανθρώπινη αγγειοποιητίνη-2 (Ang-2 ομάδα B, n=5), με λιποπολυσακχαρίτη της *Escherichia coli* O55:B5 (LPS, n=5) και με Ang-2 και στη συνέχεια LPS (Ang-2+LPS, n=7). Μία ημέρα μετά τη χορήγηση LPS οι επίμυες θυσιάζονταν. Μετρούνταν η συγκέντρωση του TNFα στους ομογενοποιημένους πλακούντες (C).

Τιμές p για τις συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων:

Σύγκριση LPS έναντι WFI ^ap<0.0001

Σύγκριση LPS έναντι Ang-2 ^cp<0.0001

Σύγκριση LPS έναντι LPS+Ang-2 ^ep<0.0001

11. Συζήτηση

Ο πρόωρος τοκετός παραμένει έναν ανεπίλυτο πρόβλημα της σύγχρονης μαιευτικής στις ανεπτυγμένες χώρες, και ένα από τα βασικότερα αίτια νεογνικής νοσηρότητας στις αναπτυσσόμενες χώρες (204). Τα δεδομένα που παρουσιάζουμε υποδεικνύουν ότι η Ang-2 πιθανότατα παρεμβαίνει στον παθογενετικό μηχανισμό του πρόωρου τοκετού επιτείνοντας τις δράσεις της φλεγμονώδους διεργασίας. Φαίνεται ότι η Ang-2 στον ορό των μητέρων, που γεννούν τελικά πρόωρα, είναι αυξημένη στο τέλος του πρώτου τριμήνου της κύησης. Τα ευρήματα, επίσης, από το πειραματικό μοντέλο στους επίμυες καταδεικνύει ότι η Ang-2 δεν επηρεάζει απευθείας την κύηση, παρά μόνο εφόσον προηγηθεί δράση της LPS.

Πρόσφατα δεδομένα από την ερευνητική μας ομάδα δείχνουν ότι η Ang-2 ανταγωνίζεται τη δράση της LPS in vitro μέσω μίας αλληλεπίδρασης με του υποδοχείς TLR4 (202). Η επιβίωση των επίμυων αυξήθηκε όταν χορηγήθηκε Ang-2 είτε δύο ώρες πριν τη λοίμωξη με *Pseudomonas aeruginosa* είτε 30 λεπτά μετά (205). Όταν η Ang-2 προστίθεται στο καλλιεργητικό μέσο μονοκυττάρων U937 που διεγείρονταν με εξασθενημένους μικροοργανισμούς, τότε τα μονοκύτταρα διακόπτουν την παραγωγή TNFα. Με βάση, λοιπόν, την in vitro δράση της Ang-2 επί των μονοκυττάρων, προτείνουμε τον εξής παθογενετικό μηχανισμό για την εμφάνιση πρόωρου τοκετού: φυσιολογικά η LPS προάγει τον πρόωρο τοκετό προκαλώντας μία ιδιαίτερα έντονη φλεγμονώδη αντίδραση του οργανισμού. Προκειμένου να εξισορροπηθεί αυτή η κατάσταση ο οργανισμός παράγει Ang-2 προκειμένου να ελαττωθεί η παραγωγή του TNFα. Σε αυτή την περίπτωση, ωστόσο, διαταράσσεται η αγγειογένεση του εμβρύου, όπως αποδεικνύεται από την ελαττωμένη συγκέντρωση Evans blue στα έμβρυα, με αποτέλεσμα την εμφάνιση πρόωρου τοκετού.

Οι αγγειοποιητίνες συμμετέχουν και συμβάλλουν στην ανάπτυξη και ωρίμανση του πλακούντα. Ειδικότερα, συμμετέχουν στη διαδικασία της μετανάστευσης των ενδοθηλιακών κυττάρων, της αύξησης της αγγειακής διαπερατότητας, ενώ συμβάλλουν και στο σχηματισμό των νέων αγγείων του πλακούντα (206). Η Ang-1 και η Ang-2 αποτελούν συνδέτες του εξωκυττάριου τμήματος του υποδοχέα της κινάσης-2 για τα ενδοθηλιακά κύτταρα του έσω

χιτώνα (Tunica internal endothelial cell kinase-2, Tie-2) (207,208). Η σύνδεση της Ang-1 με τον Tie-2 προάγει τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων και αυξάνει την επιβίωσή τους. Η Ang-2 αποτελεί έναν ενδογενή ανταγωνιστή της Ang-1 και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της αναδιαμόρφωσης των αγγείων (208).

Μέχρι στιγμής, αρκετές μελέτες υποδεικνύουν ένα σημαντικό ρόλο για την Ang-2 στην ανθρώπινη αναπαραγωγή. Στα πρώτα στάδια της ανθρώπινης κύησης η Ang-2 εκφράζεται στη συγκυτιοτροφοβλάστη και τη διεισδυτική κυτταροτροφοβλάστη (209), ενώ οι περισσότεροι ερευνητές διατείνονται ότι οι Ang1/Ang-2 πιθανότατα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αλληλεπίδραση ανάμεσα στη βλαστοκύστη και το ενδομήτριο της μητέρας στη διάρκεια της εμφύτευσης (210). Η υπερέκφραση του γονιδίου της Ang-2 προάγει την πλαστικότητα των αγγείων, μέσω της αναδιαμόρφωσης της πέριξ των αγγείων θεμέλιας ουσίας και της αύξησης της επιφάνειας εντός των αγγείων, προάγοντας το διάμεσο οίδημα και την αύξηση του βάρους του πλακούντα (211).

Η μελέτη μας δεν είναι η πρώτη που αναφέρει αυξημένα επίπεδα της Ang-2 στο πρώτο τρίμηνο της κύησης (206). Μάλιστα, ορισμένοι ερευνητές υποστηρίζουν την άποψη ότι σε κυήσεις που χαρακτηρίζονται από καθυστέρηση της ενδομήτριας ανάπτυξης η αύξηση της παραγωγής της Ang-2 είναι λιγότερο έντονη (212). Επίσης φαίνεται ότι ο προσδιορισμός της Ang-2 μεταξύ της 6^{ης} και 8^{ης} εβδομάδας κύησης μπορεί να καθορίσει τον κίνδυνο αυτόματης εκβολής, δεδομένου ότι τα επίπεδά της είναι σημαντικά μειωμένα σε κυήσεις που καταλήγουν σε εκβολή (213).

Η Ang-2 είναι γνωστό ότι αυξάνει την αγγειακή διαπερατότητα. Συνεπώς, κανείς θα ανέμενε ότι η χορήγηση Ang-2 θα είχε ως αποτέλεσμα αυξημένη συγκέντρωση Evans blue στο έμβρυο. Το Evans blue είναι μία βαφή η οποία έχει πολύ υψηλή συνάφεια με την ανθρώπινη αλβουμίνη. Έχει αποδειχθεί, λοιπόν, ότι τα μεγάλα αυτά σύμπλοκα που σχηματίζονται δε μπορούν να εγκαταλείψουν τα μητρίαία αγγεία παρά μόνο εφόσον αυξηθεί σημαντικά η αγγειακή διαπερατότητα (214). Συνεπώς, η δράση της Ang-2 να προάγει της δράση της LPS θα μπορούσε να ερμηνευθεί με βάση δύο χαρακτηριστικά της φαρμακοκινητικής του Evans blue: την απουσία δράσης

επί του πλακούντα και την αυξημένη συγκέντρωση στους ιστούς της μητέρας. Με βάση τα ευρήματα προηγούμενης ερευνητικής προσπάθειας της ομάδας μας σε επίμυες σε σηπτική κατάσταση (205) φαίνεται ότι η Ang-2 μάλλον ενεργοποιείται ως απάντηση στη λοίμωξη και προκειμένου να προστατέψει το έμβρυο από αυτήν. Στα πλαίσια αυτά, ελαττώνει τη διαπερατότητα στον πλακούντα ώστε η αιμάτωση προς το έμβρυο να ελαττώνεται, και να αυξάνεται η ροή αίματος προς τους μητρικούς ιστούς όπου και χρειάζεται προκειμένου να αντιμετωπισθεί η λοίμωξη. Η ελαττωμένη αιμάτωση προς το έμβρυο, ωστόσο, προκαλεί τη σημαντική του δυσχέρεια. Λαμβάνοντας υπόψιν το ρόλο του TNFα στην αγγειογένεση (215), καθίσταται προφανές ότι τα έμβρυα ασφυξιούν περαιτέρω εντός της μήτρας, και όλα τα ανωτέρω οδηγούν τελικά στην έναρξη του πρόωρου τοκετού.

Ορισμένοι πιθανόν να υποστηρίξουν ότι το πειραματικό μοντέλο για τον πρόωρο τοκετό με LPS ίσως να μην αποτελεί και το καλύτερο πρότυπο για τη μελέτη του πρόωρου τοκετού, δεδομένου ότι οι ενδομήτριες λοιμώξεις είναι υπεύθυνες για το 30% των πρόωρων τοκετών. Ωστόσο, αυτό αποτελεί παγκοσμίως το πιο διαδεδομένο μοντέλο για τη μελέτη του πρόωρου τοκετού, δεδομένου ότι: i) πολλές από τις λοιμώξεις που τελικά οδηγούν σε πρόωρο τοκετό διαδράμουν ασυμπτωματικές (216), και ii) ενδείξεις φλεγμονώδους διεργασίας ενδομητρίως ανευρίσκονται σε ποσοστό 60% των πρόωρων τοκετών (217). Χαρακτηριστικά, έχουν μετρηθεί υψηλά επίπεδα διάφορων φλεγμονωδών κυτταροκινών –και ιδίως του TNFα- στο αμνιακό υγρό κατά την 16-19η εβδομάδα κύησης γυναικών που τελικά γέννησαν πρόωρα (216). Ο TNFα υπερπαράγεται σε πειραματικά μοντέλα πρόωρου τοκετού σε επίμυες μετά από χορήγηση LPS και θεωρείται βασικός επαγωγέας του πρόωρου τοκετού. Σε αυτά τα πειραματικά μοντέλα η προθεραπεία με αναστολείς του TNFα –όπως είναι το etanercept ή ειδικό έναντι του TNFα αντίσωμα- είχε ως αποτέλεσμα την αναστολή του πρόωρου τοκετού, ενώ ελάττωσε τη συγκέντρωση του TNFα στα έμβρυα μητέρας και στην κυκλοφορία της (217,218). Εικάζεται ότι ο TNFα εξασκεί τη δράση του μέσω την προαγωγής της υπερέκφρασης της κυκλοοξυγενάσης-2 και κατά συνέπεια των προσταγλανδινών στη συνέχεια (218). Στην παρούσα μελέτη, η προθεραπεία με Ang-2 οδήγησε σε ελάττωση των επιπέδων του TNFα, υποδεικνύοντας

πιθανότατα ότι ο κύριος μηχανισμός δράσης για την προαγωγή του πρόωρου τοκετού από την Ang-2 είναι η σημαντική ελάττωση της αιμάτωσης του εμβρύου.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν υποδεικνύουν ένα σημαντικό ρόλο για την Ang-2 στον πρόωρο τοκετό που οφείλεται στην επίδραση κάποιας φλεγμονώδους διεργασίας. Η δράση αυτή της Ang-2 εξασκείται μέσω της μεταβολής της αγγειακής διαπερατότητας στον πλακούντα που καταλήγει σε μειωμένη αιμάτωση του εμβρύου. Τα παρόντα αποτελέσματα είναι ιδιαίτερα ελπιδοφόρα για την ανάπτυξη θεραπειών για την πρόωμη αντιμετώπιση του πρόωρου τοκετού.

Χρηματοδότηση

Μέρος της μελέτης χρηματοδοτήθηκε από ευγενική χορηγία του Ελληνικού Ινστιτούτου για τη Μελέτη της Σήψης. Οι χορηγοί δε διαδραμάτισαν κανένα ρόλο στο σχεδιασμό της μελέτης, τη συλλογή των δειγμάτων, την ανάλυση αυτών, την απόφαση για δημοσίευση των αποτελεσμάτων ή την προετοιμασία του κειμένου. Καμία άλλη επιχορήγηση δεν ελήφθη για την ολοκλήρωση της παρούσας ερευνητικής προσπάθειας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ:

1. Schleußner E. The prevention, diagnosis and treatment of premature labor. Dtsch Arztebl Int, 110:227-35, 2013.
2. Pawelec M, Pałczyński B, Krzemieniewska J, Karmowski M, Koryś J, Łatkowski K, Karmowski A. Initiation of preterm labor. Adv Clin Exp Med, 22:283-288, 2013.
3. Galinsky R, Polglase GR, Hooper SB, Black MJ, Moss TJ. J Pregnancy. The consequences of chorioamnionitis: preterm birth and effects on development., 10:1155 - 12831, 2013
4. Krishnan L, Nguyen T, McComb S.J Reprod Immunol. From mice to women: the conundrum of immunity to infection during pregnancy, 97:62-73, 2013.
5. Nieuwenhuijsen MJ, Dadvand P, Grellier J, Martinez D, Vrijheid M. Environmental risk factors of pregnancy outcomes: a summary of recent meta-analyses of epidemiological studies. Environ Health, 15:12-6, 2013.
6. Fogarasi-Grenczer A, Balázs P. The correlation between smoking, environmental tobacco smoke and preterm birth. Orv Hetil, 153:690-694, 2012.
7. Subramaniam A, Abramovici A, Andrews WW, Tita AT. Antimicrobials for preterm birth prevention: an overview. Infect Dis Obstet Gynecol, 10:157-159, 2012.
8. Mahendroo M. Cervical remodeling in term and preterm birth: insights from an animal model. Reproduction, 143:429-38, 2012
9. Hubinont C, Debieve F. Prevention of preterm labour: 2011 update on tocolysis. J Pregnancy, 10:1155/941057, 2011.
10. Agrawal V, Hirsch E Intrauterine infection and preterm labor. Semin Fetal Neonatal Med, 17:12-19, 2012.
11. Koh GY, Kim I, Kwak HJ, Yun MJ, Leem JC. Biomedical significance of endothelial cell specific growth factor, angiopoietin. Exp Mol Med, 34:1-11, 2002.

12. Holmgren C, Esplin MS, Hamblin S, Molenda M, Simonsen S, Silver R. Evaluation of the use of anti-TNF-alpha in an LPS-induced murine model. *J Reprod Immunol*, 78:134-139, 2008.
13. Bizargity P, Del Rio R, Phillippe M, Teuscher C, Bonney EA. Resistance to Lipopolysaccharide-Induced Preterm Delivery Mediated by Regulatory T Cell Function in Mice. *Biol Reprod*, 80:874-881, 2009.
14. WHO, March of Dimes, Partnership for Maternal, Newborn & Child Health, Save the Children. Born too soon: the global action report on preterm birth, www.who.int/maternal_child_adolescent/documents/born_too_soon/en/ (Assessed on May 2012).
15. Spong CY. Defining "term" pregnancy: recommendations from the Defining "Term" Pregnancy Workgroup. *JAMA*, 309:2445, 2013.
16. The American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Obstetric Practice Society for Maternal-Fetal Medicine. Committee Opinion No 579: Definition of Term Pregnancy. *Obstet Gynecol*, 122:1139, 2013.
17. WHO, March of Dimes, Partnership for Maternal, Newborn & Child Health, Save the Children. Born too soon: the global action report on preterm birth. www.who.int/maternal_child_adolescent/documents/born_too_soon/en/ (Accessed on May 04, 2012).
18. WHO Statistical Information System (WHOSIS). Low birthweight newborns. www.who.int/whosis/indicators/compendium/2008/2bwn/en/index.html (Accessed on April 16, 2012).
19. Villar J, Papageorgiou AT, Knight HE, et al. The preterm birth syndrome: a prototype phenotypic classification. *Am J Obstet Gynecol*, 206:119, 2012.
20. Lawn JE, Gravett MG, Nunes TM, et al. Global report on preterm birth and stillbirth (1 of 7): definitions, description of the burden and opportunities to improve data. *BMC Pregnancy Childbirth*, 10: 1:S1, 2012.
21. Mwaniki MK, Atieno M, Lawn JE, Newton CR. Long-term neurodevelopmental outcomes after intrauterine and neonatal insults: a systematic review. *Lancet*, 379:445, 2012.

22. Martin JA, Hamilton BE, Ventura SJ, et al. Births: Final data for 2011. *Natl Vital Stat Rep*, 62, 2013.
23. Blencowe H, Cousens S, Oestergaard MZ, et al. National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications. *Lancet*, 379:2162, 2012.
24. Zakar T, Mesiano S. How does progesterone relax the uterus in pregnancy? *N Engl J Med*, 364:972, 2011.
25. McMaster-Fay RA. Failure of physiologic transformation of the spiral arteries of the uteroplacental circulation in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol*, 191:1837, 2004.
26. Romero R, Kusanovic JP, Chaiworapongsa T, Hassan SS. Placental bed disorders in preterm labor, preterm PROM, spontaneous abortion and abruptio placentae. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 25:313, 2011.
27. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet*, 371:75-84, 2008.
28. Zeitlin J, Szamotulska K, Drewniak N, Mohangoo AD, Chalmers J, Sakkeus L, Irgens L, Gatt M, Gissler M, Blondel B; Euro-Peristat Preterm Study Group. Preterm birth time trends in Europe: a study of 19 countries. *BJOG*, 120:1356-1365, 2013.
29. Waters TP, Mercer BM. The management of preterm premature rupture of the membranes near the limit of fetal viability. *Am J Obstet Gynecol*, 201:230, 2009.
30. Alexander GR. Prematurity at birth: determinants, consequences, and geographic variation. In: Behrman RE, Butler AS, eds. *Preterm Birth: Causes, Consequences, and Prevention*. Washington, DC: National Academies Press, 607-608, 2007.
31. Ananth CV, Vintzileos AM. Maternal-fetal conditions necessitating a medical intervention resulting in preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*, 195:1557-1563, 2006

32. Bloom SL, Yost NP, McIntire DD, Leveno KJ. Recurrence of preterm birth in singleton and twin pregnancies. *Obstet Gynecol*, 98:379, 2001.
33. Esplin MS, O'Brien E, Fraser A, et al. Estimating recurrence of spontaneous preterm delivery. *Obstet Gynecol*, 112:516, 2008.
34. Bhattacharya S, Raja EA, Mirazo ER, et al. Inherited predisposition to spontaneous preterm delivery. *Obstet Gynecol*, 115:1125, 2010.
35. Adams MM, Elam-Evans LD, Wilson HG, Gilbertz DA. Rates of and factors associated with recurrence of preterm delivery. *JAMA*, 283:1591, 2000.
36. Mercer BM, Goldenberg RL, Moawad AH, et al. The preterm prediction study: effect of gestational age and cause of preterm birth on subsequent obstetric outcome. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. *Am J Obstet Gynecol*, 181:1216, 1999.
37. Gardosi J, Francis A. Early pregnancy predictors of preterm birth: the role of a prolonged menstruation-conception interval. *BJOG*, 107:228, 2000.
38. Ananth CV, Getahun D, Peltier MR, et al. Recurrence of spontaneous versus medically indicated preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*, 195:643, 2006.
39. Bakketeig LS, Hoffman HJ, Harley EE. The tendency to repeat gestational age and birth weight in successive births. *Am J Obstet Gynecol*, 135:1086, 1979.
40. Carr-Hill RA, Hall MH. The repetition of spontaneous preterm labour. *Br J Obstet Gynaecol*, 92:921, 1985.
41. McManemy J, Cooke E, Amon E, Leet T. Recurrence risk for preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol*, 196:576.e1, 2007.
42. Lykke JA, Paidas MJ, Langhoff-Roos J. Recurring complications in second pregnancy. *Obstet Gynecol*, 113:1217, 2009.
43. Kristensen J, Langhoff-Roos J, Kristensen FB. Implications of idiopathic preterm delivery for previous and subsequent pregnancies. *Obstet Gynecol*, 86:800, 1995.

44. Mercer B, Milluzzi C, Collin M. Periviable birth at 20 to 26 weeks of gestation: proximate causes, previous obstetric history and recurrence risk. *Am J Obstet Gynecol*, 193:1175, 2005.
45. Menard MK, Newman RB, Keenan A, Ebeling M. Prognostic significance of prior preterm twin delivery on subsequent singleton pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 174:1429, 1996.
46. Rydhstroem H. Gestational duration in the pregnancy after a preterm twin delivery. *Am J Obstet Gynecol*, 178:136, 1998.
47. Facco FL, Nash K, Grobman WA. Are women who have had a preterm twin delivery at greater risk of preterm birth in a subsequent singleton pregnancy? *Am J Obstet Gynecol*, 197:253.e1, 2007.
48. Rafael TJ, Hoffman MK, Leiby BE, Berghella V. Gestational age of previous twin preterm birth as a predictor for subsequent singleton preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*, 206:156.e1, 2012.
49. Schaaf JM, Hof MH, Mol BW, et al. Recurrence risk of preterm birth in subsequent singleton pregnancy after preterm twin delivery. *Am J Obstet Gynecol*, 207:279.e1, 2012.
50. Schaaf JM, Hof MH, Mol BW, et al. Recurrence risk of preterm birth in subsequent twin pregnancy after preterm singleton delivery. *BJOG*, 119:1624, 2012.
51. Norman J and Greer I. Preterm labour: managing risk in clinical practice. Chapter 1. The epidemiology of preterm labour and delivery. Cambridge University Press pp.6.
52. Hsieh TT, Chen SF, Shau WY, Hsieh CC, Hsu JJ, Hung TH. The impact of interpregnancy interval and previous preterm birth on the subsequent risk of preterm birth.. *J Soc Gynecol Investig*, 12:202-207, 2005.
53. Basso O, Olsen J, Christensen K. Risk of preterm delivery, low birthweight and growth retardation following spontaneous abortion: a registry-based study in Denmark. *Int J Epidemiol*, 27:642-6, 1998.
54. Weiss JL, Malone FD, Vidaver J, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Hankins GD, Berkowitz RL, Gross SJ, Dugoff L, Timor-Tritsch IE, D'Alton ME;

FASTER Consortium. Threatened abortion: A risk factor for poor pregnancy outcome, a population-based screening study. *Am J Obstet Gynecol*, 190:745-50, 2004.

55. Pandian Z, Bhattacharya S, Templeton A. Review of unexplained infertility and obstetric outcome: a 10 year review. *Hum Reprod*, 16:2593-2597, 2001.
56. Helmerhorst FM, Perquin DA, Donker D, Keirse MJ. Perinatal outcome of singletons and twins after assisted conception: a systematic review of controlled studies. *BMJ*, 31:261, 2004.
57. Tough SC, Newburn-Cook C, Johnston DW, Svenson LW, Rose S, Belik J. Delayed childbearing and its impact on population rate changes in lower birth weight, multiple birth, and preterm delivery. *Pediatrics*, 109:399-403, 2002.
58. Joseph KS, Allen AC, Dodds L, Vincer MJ, Armson BA. Causes and consequences of recent increases in preterm birth among twins. *Obstet Gynecol*, 98:57-64, 2001.
59. Joseph KS, Marcoux S, Ohlsson A, Kramer MS, Allen AC, Liu S, Wu Wen S, Demissie K, Sauve R, Liston R; Fetal and Infant Health Study Group of the Canadian Perinatal Surveillance System. Preterm birth, stillbirth and infant mortality among triplet births in Canada, 1985-96. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 16:141-148, 2002.
60. Eliyahu S, Weiner E, Nachum Z, Shalev E. Epidemiologic risk factors for preterm delivery. *Isr Med Assoc J*, 4:1115-1117, 2002.
61. Johnson D, Jin Y, Truman C. Influence of aboriginal and socioeconomic status on birth outcome and maternal morbidity. *J Obstet Gynaecol Can*, 24:633-640, 2002.
62. Cortes Castell E, Rizo-Baeza MM, Aguilar Cordero MJ, Rizo-Baeza J, Gil Guillén V. Maternal age as risk factor of prematurity in Spain; Mediterranean area. *Nutr Hosp*, 28:1536-40, 2013
63. Malaquias JB, Ramalho FS, Omoto C, Godoy WA, Silveira RF. Imidacloprid affects the functional response of predator *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) to strains of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) on Bt cotton. *Ecotoxicology*, 19:2013 [Epub ahead of print].

64. Olausson PO, Cnattingius S, Haglund B. Does the increased risk of preterm delivery in teenagers persist in pregnancies after the teenage period. *BJOG*, 108:721-5, 2001.
65. Tough SC, Svenson LW, Johnston DW, Schopflocher D. Characteristics of preterm delivery and low birthweight among 113,994 infants in Alberta: 1994-1996. *Can J Public Health*, 92:276-280, 2001.
66. McPheeters ML, Miller WC, Hartmann KE, et al. The epidemiology of threatened preterm labor: a prospective cohort study. *Am J Obstet Gynecol*, 192:1325, 2005.
67. Fuchs IB, Henrich W, Osthues K, Dudenhausen JW. Sonographic cervical length in singleton pregnancies with intact membranes presenting with threatened preterm labor. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 24:554, 2004.
68. Beverly A. Von Der Pool. Preterm labour: Diagnosis and treatment . *American Family Physician*. 15, 1998.
69. Koike T, Minakami H, Kosuge S, Usui R, Matsubara S, Izumi A, Sato I. Uterine leiomyoma in pregnancy: its influence on obstetric performance. *J Obstet Gynaecol Res*, 25:309-13, 1999.
70. Hosseini MS, Yaghoubpour S. Late pregnancy outcomes in women with vaginal bleeding in their first trimester. *J Obstet Gynaecol India*, 63:311-5, 2013.
71. Grindlay K, Grossman D. Unintended pregnancy among active-duty women in the United States military, 2008. *Obstet Gynecol*, 121:241-246, 2013.
72. Foster HW, Wu L, Bracken MB, Semanya K, Thomas J, Thomas J. Intergenerational effects of high socioeconomic status on low birthweight and preterm birth in African Americans. *J Natl Med Assoc*, 92:213-221, 2000.
73. Garn SM, Shaw HA, Guire KE, McCabe K. Apportioning black-white hemoglobin and hematocrit differences during pregnancy. *Am J Clin Nutr*, 30:461-2, 1977.
74. Slattery MM, Morrison JJ. Preterm delivery. *Lancet*, 360:1489-1497, 2002.

75. Hamilton BE, Martin JA, Ventura SJ. Births: preliminary data for 2005. Health E-Stats. Hyattsville, MD, 2006. <http://www.cdc.gov/nchs/products/pubs/pubd/hestats/prelimbirths05/prelimbirths05.htm>. (accessed July 15, 2007).
76. Goldenberg RL, Rouse DJ. The prevention of premature birth. *N Engl J Med*, 339: 313-320, 1998.
77. Iams JD, Romero R, Culhane JF, Goldenberg RL. The prevention of preterm birth. *Lancet* (in press).
78. McCormick MC. The contribution of low birth weight to infant mortality and childhood morbidity. *N Engl J Med*, 312: 82-90, 1985.
79. Saigal S, Doyle LW. An overview of mortality and sequelae of preterm birth from infancy to adulthood. *Lancet* (in press).
80. Tucker JM, Goldenberg RL, Davis RO, Copper RL, Winkler CL, Hauth JC. Etiologies of preterm birth in an indigent population: is prevention a logical expectation?. *Obstet Gynecol*, 77: 343-347, 1991.
81. Ananth CV, Vintzileos AM. Epidemiology of preterm birth and its clinical subtypes. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 19: 773-782, 2006.
82. Brown S, Lumley J. The 1993 Survey of Recent Mothers: issues in survey design, analysis and influencing policy. *Int J Qual Health Care*, 9:265-275, 1997.
83. Hedegaard M, Henriksen TB, Secher NJ, Hatch MC, Sabroe S. Do stressful life events affect duration of gestation and risk of preterm delivery? *Epidemiology*, 7:339-45, 1996.
84. Ananth CV, Joseph KS, Oyelese Y, Demissie K, Vintzileos AM. Trends in preterm birth and perinatal mortality among singletons: United States, 1989 through 2000. *Obstet Gynecol*, 105: 1084-1091, 2005.
85. Jackson RA, Gibson KA, Wu YW, Croughan MS. Perinatal outcomes in singletons following in vitro fertilization: a meta—analysis. *Obstet Gynecol*, 103: 551-563, 2004.

86. Demissie K, Rhoads GG, Ananth CV, et al. Trends in preterm birth and neonatal mortality among blacks and whites in the United States from 1989 to 1997. *Am J Epidemiol*, 154: 307-315, 2001.
87. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Practice Bulletins-Obstetrics, Society for Maternal-Fetal Medicine, ACOG Joint Editorial Committee. ACOG Practice Bulletin #56: Multiple gestation: complicated twin, triplet, and high-order multifetal pregnancy. *Obstet Gynecol*, 104:869, 2004.
88. Kiely JL. What is the population-based risk of preterm birth among twins and other multiples? *Clin Obstet Gynecol*, 41:3, 1998.
89. Teitelman AM, Welch LS, Hellenbrand KG, Bracken MB. Effect of maternal work activity on preterm birth and low birth weight. *Am J Epidemiol*, 131:104-113, 1990.
90. Mozurkewich EL, Luke B, Avni M, Wolf FM. Working conditions and adverse pregnancy outcome: a meta-analysis. *Obstet Gynecol*, 95:623-35, 2000.
91. Armstrong BG, McDonald AD, Sloan M. Cigarette, alcohol, and coffee consumption and spontaneous abortion. *Am J Public Health*, 82:85-7, 1992.
92. Verkerk PH, van Noord-Zaadstra BM, Florey CD, de Jonge GA, Verloove-Vanhorick SP. The effect of moderate maternal alcohol consumption on birth weight and gestational age in a low risk population. *Early Hum Dev*, 32:121-129, 1993.
93. Beijers C, Ormel J, Meijer JL, Verbeek T, Bockting CL, Burger H. Stressful Events and Continued Smoking and Continued Alcohol Consumption during Mid-Pregnancy. *PLoS One*, 20:9:e86359, 2014.
94. Meyer S, Gortner L. Necrotizing enterocolitis in preterm infants. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 37:13, 2013.
95. Jackson RA, Gibson KA, Wu YW, Croughan MS. Perinatal outcomes in singletons following in vitro fertilization: a meta-analysis. *Obstet Gynecol*, 103:551-63, 2004.
96. TambyRaja RL, Ratnam SS. Plasma steroid changes in twin pregnancies. *Prog Clin Biol Res*, 69A:189, 1981.

97. Muechler EK, Huang KE. Plasma estrogen and progesterone in quintuplet pregnancy induced with menotropins. *Am J Obstet Gynecol*, 147:105, 1983.
98. Weiss G, Goldsmith LT, Sachdev R, et al. Elevated first-trimester serum relaxin concentrations in pregnant women following ovarian stimulation predict prematurity risk and preterm delivery. *Obstet Gynecol*, 82:821, 1993.
99. Williams MA, Mittendorf R, Lieberman E, Monson RR. Adverse infant outcomes associated with first-trimester vaginal bleeding. *Obstet Gynecol*, 78:14, 1991.
100. Gardosi J, Francis A. Early pregnancy predictors of preterm birth: the role of a prolonged menstruation-conception interval. *BJOG*, 107:228-37, 2000.
101. McCowan LM, Dekker GA, Chan E, Stewart A, Chappell LC, Hunter M, Moss-Morris R, North RA; SCOPE consortium. Spontaneous preterm birth and small for gestational age infants in women who stop smoking early in pregnancy: prospective cohort study. *BMJ*, 26;338:b1081., 2009.
102. Mutsaerts MA, Groen H, Buitervan der Meer A, Sijtsma A, Sauer PJ, Land JA, Mol BW, Corpeleijn E, Hoek A. Effects of paternal and maternal lifestyle factors on pregnancy complications and perinatal outcome. A population-based birth-cohort study: the GECKO Drenthe cohort. *Hum Reprod*, 2:6, 2014.
103. Moutquin JM. Classification and heterogeneity of preterm birth. *BJOG*. 110 Suppl, 20:30-33, 2003.
104. Slattery MM, Morrison JJ. Preterm delivery. *Lancet*, 360:1489-1497, 2002.
105. Volpe JJ. Effect of cocaine use on the fetus. *N Engl J Med*, 327:399-407, 1992.
106. Neerhof MG, MacGregor SN, Retzky SS, Sullivan TP. Cocaine abuse during pregnancy: peripartum prevalence and perinatal outcome. *Am J Obstet Gynecol*, 161:633-8, 1989.
107. Offidani C, Pomini F, Caruso A, Ferrazzani S, Chiarotti M, Fiori A. Cocaine during pregnancy: a critical review of the literature. *Minerva Ginecol*, 47:381-90, 1995.

108. Little BB, Snell LM, Klein VR, Gilstrap LC 3rd, Knoll KA, Breckenridge JD. Maternal and fetal effects of heroin addiction during pregnancy. *J Reprod Med*, 35:159-62, 1990.
109. Bech BH, Obel C, Henriksen TB, Olsen J. Effect of reducing caffeine intake on birth weight and length of gestation: randomised controlled trial. *BMJ*, 334:409, 2007 .
110. Ronnenberg AG, Goldman MB, Chen D, Aitken IW, Willett WC, Selhub J, Xu X. Preconception homocysteine and B vitamin status and birth outcomes in Chinese women. *Am J Clin Nutr*, 76:1385-1391, 2002.
111. Olsen SF, Secher NJ. Low consumption of seafood in early pregnancy as a risk factor for preterm delivery: prospective cohort study. *BMJ*, 324:447, 2002
112. Oken E, Kleinman KP, Olsen SF, Rich-Edwards JW, Gillman MW. Associations of seafood and elongated n-3 fatty acid intake with fetal growth and length of gestation: results from a US pregnancy cohort. *Am J Epidemiol*, 160:774-83, 2004.
113. Schieve LA, Cogswell ME, Scanlon KS, Perry G, Ferre C, Blackmore-Prince C, Yu SM, Rosenberg D. Prepregnancy body mass index and pregnancy weight gain: associations with preterm delivery. The NMIHS Collaborative Study Group. *Obstet Gynecol*, 96:194-200, 2000.
114. Spinillo A, Capuzzo E, Piazzzi G, Ferrari A, Morales V, Di Mario M. Risk for spontaneous preterm delivery by combined body mass index and gestational weight gain patterns. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 77:32-6, 1998.
115. Siega-Riz AM, Adair LS, Hobel CJ. Maternal underweight status and inadequate rate of weight gain during the third trimester of pregnancy increases the risk of preterm delivery. *J Nutr*, 126:146-53, 1996.
116. Stotland NE, Caughey AB, Lahiff M, Abrams B. Weight gain and spontaneous preterm birth: the role of race or ethnicity and previous preterm birth. *Obstet Gynecol*, 108:1448-55, 2006.
117. Harlow BL, Frigoletto FD, Cramer DW, Evans JK, LeFevre ML, Bain RP, McNellis D. Determinants of preterm delivery in low-risk pregnancies. The RADIUS Study Group. *J Clin Epidemiol*, 49:441-448, 1996.

118. Read JS, Klebanoff MA Sexual intercourse during pregnancy and preterm delivery: effects of vaginal microorganisms. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *Am J Obstet Gynecol*, 168:514-519, 1993.
119. Yost NP, Owen J, Berghella V, Thom E, Swain M, Dildy GA 3rd, Miodovnik M, Langer O, Sibai B; National Institute of Child Health and Human Development, Maternal-Fetal Medicine Units Network. Effect of coitus on recurrent preterm birth. *Obstet Gynecol*, 107:793-797, 2006.
120. Marozienne L, Grazuleviciene R. Maternal exposure to low-level air pollution and pregnancy outcomes: a population-based study. *Environ Health*, 1:6, 2002.
121. Wang X, Zuckerman B, Kaufman G, Wise P, Hill M, Niu T, Ryan L, Wu D, Xu X. Molecular epidemiology of preterm delivery: methodology and challenges. *Paediatr Perinat Epidemiol*, 15:63-77, 2001.
122. Zeitlin J, Saurel-Cubizolles MJ, De Mouzon J, Rivera L, Ancel PY, Blondel B, Kaminski M. Fetal sex and preterm birth: are males at greater risk? *Hum Reprod*, 17:2762-2768, 2002.
123. James WH. Cycle day of insemination, sex ratio of offspring and duration of gestation. *Ann Hum Biol*, 21:263-266, 1994.
124. Hall MH, Carr-Hill R Impact of sex ratio on onset and management of labour. . *Br Med J (Clin Res Ed)*, 285:401-403, 1982.
125. James WH. Why are boys more likely to be preterm than girls? Plus other related conundrums in human reproduction. *Hum Reprod*, 15:2108-2111, 2000.
126. Rib DM, Sherer DM, Woods JR Jr. Maternal and neonatal outcome associated with prolonged premature rupture of membranes below 26 weeks' gestation. *Am J Perinatol*, 10:369, 1993.
127. BENIRSCHKE K. Routes and types of infection in the fetus and the newborn. *AMA J Dis Child*, 99:714-721, 1960.
128. Daikoku NH, Kaltreider DF, Johnson TR Jr, Johnson JW, Simmons MAPremature rupture of membranes and preterm labor: neonatal infection and perinatal mortality risks. *Obstet Gynecol*, 58:417-25, 1981.

129. Evangelinakis NE, Polyzou EN, Salamalekis GE, Kotsaki AJ, Chrelias CG, Giamarellos-Bourboulis EJ, Kassanos DP. Alterations in the cellular component of the maternal immune system in a murine preterm delivery model. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 26:1024-9, 2013.
130. Dennis AT, Solnordal CB. Acute pulmonary oedema in pregnant women. *Anaesthesia*, 67:646, 2012.
131. Lim WS, Macfarlane JT, Colthorpe CL. Pneumonia and pregnancy. *Thorax*, 56:398, 2001.
132. Feldkamp ML, Meyer RE, Krikov S, Botto LD. Acetaminophen use in pregnancy and risk of birth defects: findings from the National Birth Defects Prevention Study. *Obstet Gynecol* 2010; 115:109. www.reprotox.com (Accessed on January 29, 2013).
133. Hadley JA, Mösges R, Desrosiers M, et al. Moxifloxacin five-day therapy versus placebo in acute bacterial rhinosinusitis. *Laryngoscope*, 120:1057, 2010.
134. Engels EA, Terrin N, Barza M, Lau J. Meta-analysis of diagnostic tests for acute sinusitis. *J Clin Epidemiol*, 53:852, 2000.
135. Chow AW, Benninger MS, Brook I, et al. IDSA clinical practice guideline for acute bacterial rhinosinusitis in children and adults. *Clin Infect Dis*, 54:e72, 2012.
136. Rosenfeld RM, Andes D, Bhattacharyya N, et al. Clinical practice guideline: adult sinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 137:S1, 2007.
137. Chen YH, Keller J, Wang IT, Lin CC, Lin HC. Pneumonia and pregnancy outcomes: a nationwide population-based study. *Am J Obstet Gynecol*, 207:288.e1-7, 2012.
138. Smaill F, Vazquez JC. Antibiotics for asymptomatic bacteriuria in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*, CD000490, 2007.
139. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med*, 342:1500-1507, 2000.

140. Goldenberg RL, Culhane JF. Infection as a cause of preterm birth. *Clin Perinatol*, 30:677-700, 2003.
141. 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*, 173:606-12, 1995.
142. Fokkens W, Lund V, Mullol J, European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps Group. EP3OS 2007: European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2007. A summary for otorhinolaryngologists. *Rhinology*, 45:97, 2007.
143. Mann JR, McDermott S, Gill T. Sexually transmitted infection is associated with increased risk of preterm birth in South Carolina women insured by Medicaid. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 23:563-568, 2010.
144. Ugwumadu A, Manyonda I, Reid F, Hay P. Effect of early oral clindamycin on late miscarriage and preterm delivery in asymptomatic women with abnormal vaginal flora and bacterial vaginosis: a randomised controlled trial. *Lancet*, 361:983-988, 2003.
145. Edwards MS, Nizet V, Baker CJ. Group B Streptococcal Infections. In: *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*, 7th ed, Remington JS, Klein JO, Wilson CB, et al (Eds), Elsevier Saunders, Philadelphia, 419, 2011.
146. Eichenwald EC. Perinatally transmitted neonatal bacterial infections. *Infect Dis Clin North Am*, 11:223, 1997.
147. Verani JR, McGee L, Schrag SJ, Division of Bacterial Diseases, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of perinatal group B streptococcal disease--revised guidelines from CDC, 2010. *MMWR Recomm Rep*, 59:1, 2010.
148. Phares CR, Lynfield R, Farley MM, et al. Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999-2005. *JAMA*, 299:2056, 2008.

149. Valkenburg-van den Berg AW, Sprij AJ, Dekker FW, et al. Association between colonization with Group B Streptococcus and preterm delivery: a systematic review. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 88:958, 2009.
150. Anderson BL, Simhan HN, Simons KM, Wiesenfeld HC. Untreated asymptomatic group B streptococcal bacteriuria early in pregnancy and chorioamnionitis at delivery. *Am J Obstet Gynecol*, 196:524.e1, 2007.
151. Kurkinen-Räty M, Vuopala S, Koskela M, Kekki M, Kurki T, Paavonen J, Jouppila P. A randomised controlled trial of vaginal clindamycin for early pregnancy bacterial vaginosis. *BJOG*, 107:1427-32, 2000.
152. Kekki M, Kurki T, Pelkonen J, Kurkinen-Räty M, Cacciatore B, Paavonen J. Vaginal clindamycin in preventing preterm birth and peripartur infections in asymptomatic women with bacterial vaginosis: a randomized, controlled trial. *Obstet Gynecol*, 97:643-648, 2001.
153. Romero R, Mazar M, Oyarzun E, Sirtori M, Wu YK, Hobbins JC. Is genital colonization with *Mycoplasma hominis* or *Ureaplasma urealyticum* associated with prematurity/low birth weight? *Obstet Gynecol*, 73:532-536, 1989.
154. Mason PR, Brown IM. *Trichomonas* in pregnancy. *Lancet*, 2:1025-1026, 1980.
155. Barton WA, Tzvetkova D, Nikolov DB. "Structure of the angiopoietin-2 receptor binding domain and identification of surfaces involved in Tie2 recognition". *Structure*, 13: 825–832, 2005.
156. Jakobsson M, Gissler M, Paavonen J, Tapper AM. Loop electrosurgical excision procedure and the risk for preterm birth. *Obstet Gynecol*, 114:504, 2009.
157. Owen J, Hankins G, Iams JD, et al. Multicenter randomized trial of cerclage for preterm birth prevention in high-risk women with shortened midtrimester cervical length. *Am J Obstet Gynecol*, 201:375.e1, 2009.
158. Nygren P, Fu R, Freeman M, et al. Evidence on the benefits and harms of screening and treating pregnant women who are asymptomatic for bacterial vaginosis: an update review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*, 148:220, 2008.

159. Sheiner E, Mazor-Drey E, Levy A. Asymptomatic bacteriuria during pregnancy. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 22:423, 2009.
160. Khader YS, Ta'ani Q. Periodontal diseases and the risk of preterm birth and low birth weight: a meta-analysis. *J Periodontol*, 76:161, 2005.
161. Arai, F. Quiescent stem cells in the niche. Cambridge, MA: Harvard Stem Cell Institute, 2008.
162. Jeansson M, Gawlik A, Anderson G, Li C, Kerjaschki D, Henkelman M et al. "Angiopoietin-1 is essential in mouse vasculature during development and in response to injury.". *J Clin Invest*, 121: 2278–2289, 2011.
163. Harmey, Judith. VEGF and cancer. Georgetown, Tex: Landes Bioscience/Eurekah.com New York, N.Y. Kluwer Academic/Plenum Publishers. ISBN 0-306-47988-85, 2004.
164. Eklund L, Saharinen P. "Angiopoietin signaling in the vasculature.". *Exp Cell Res*, 319:1271–1280, 2013.
165. Lim HS, Blann AD, Chong AY, Freestone B, Lip GY. "Plasma vascular endothelial growth factor, angiopoietin-1, and angiopoietin-2 in diabetes: implications for cardiovascular risk and effects of multifactorial intervention. *Diabetes Care*, 27: 2918–24, 2004.
166. Félétou, M. "Chapter 2, Multiple Functions of the Endothelial Cells. The Endothelium: Part 1: Multiple Functions of the Endothelial Cells—Focus on Endothelium-Derived Vasoactive Mediators. San Rafael, CA: Morgan & Claypool Life Sciences, 2011.
167. Amo Y, Masuzawa M, Hamada Y, Katsuoka K. "Observations on angiopoietin 2 in patients with angiosarcoma". *Br. J. Dermatol*, 150:1028–1029, 2004.
168. Pappa CA, Tsirakis G, Samiotakis P, Tsigaridaki M, Alegakis A, Goulidaki N et al. "Serum levels of angiopoietin-2 are associated with the growth of multiple myeloma.". *Cancer Invest*, 31:385–389, 2013.
169. Li C, Sun CJ, Fan JC, Geng N, Li CH, Liao J et al. "Angiopoietin-2 expression is correlated with angiogenesis and overall survival in oral squamous cell carcinoma.". *Med Oncol*, 30: 571, 2013.

170. Shroff RC, Price KL, Kolatsi-Joannou M, Todd AF, Wells D, Deanfield J et al. . "Circulating angiopoietin-2 is a marker for early cardiovascular disease in children on chronic dialysis." PLoS ONE, 8: e56273, 2013.
171. Fiedler U, Krissl T, Koidl S, Weiss C, Koblizek T, Deutsch U, Martiny-Baron G, Marmé D, Augustin HG. Angiopoietin-1 and angiopoietin-2 share the same binding domains in the Tie-2 receptor involving the first Ig-like loop and the epidermal growth factor-like repeats. J Biol Chem, 278:1721-1727, 2003
172. Procopio WN, Pelavin PI, Lee WM, Yeilding NM. Angiopoietin-1 and -2 coiled coil domains mediate distinct homo-oligomerization patterns, but fibrinogen-like domains mediate ligand activity. J Biol Chem, 274:30196-30201, 1999.
173. Sugimachi K, Tanaka S, Taguchi K, Aishima S, Shimada M, Tsuneyoshi M. Angiopoietin switching regulates angiogenesis and progression of human hepatocellular carcinoma. J Clin Pathol, 56:854-860, 2003.
174. Stratmann A, Risau W, Plate KH. Cell type-specific expression of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 suggests a role in glioblastoma angiogenesis. Am J Pathol, 153:1459-1466, 1998.
175. Kranidioti H, Orfanos SE, Vaki I, Kotanidou A, Raftogiannis M, Dimopoulou I, Kotsaki A, Savva A, Papapetropoulos A, Armaganidis A, Giamarellos-Bourboulis EJ. Angiopoietin-2 is increased in septic shock: evidence for the existence of a circulating factor stimulating its release from human monocytes. Immunol Lett, 125:65-71, 2009.
176. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. Nat Med, 9:653-660, 2003.
177. Hegen A, Koidl S, Weindel K, Marmé D, Augustin HG, Fiedler U. Expression of angiopoietin-2 in endothelial cells is controlled by positive and negative regulatory promoter elements. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 24:1803-1809, 2004.
178. Brown LF, Dezube BJ, Tognazzi K, Dvorak HF, Yancopoulos GD. Expression of Tie1, Tie2, and angiopoietins 1, 2, and 4 in Kaposi's sarcoma and cutaneous angiosarcoma. Am J Pathol, 156:2179-2183, 2000.
179. Yao D, Taguchi T, Matsumura T, Pestell R, Edelstein D, Giardino I, Suske G, Ahmed N, Thornalley PJ, Sarthy VP, Hammes HP, Brownlee M. Methylglyoxal

modification of mSin3A links glycolysis to angiopoietin-2 transcription. *Cell*, 124:275-86, 2006.

180. Lewis CE, De Palma M, Naldini L. Tie2-expressing monocytes and tumor angiogenesis: regulation by hypoxia and angiopoietin-2. *Cancer Res*, 67:8429-8432, 2007.
181. Giuliano JS Jr, Wheeler DS. Excess circulating angiopoietin-2 levels in sepsis: harbinger of death in the intensive care unit? *Crit Care*, 13:114, 2009.
182. Mercer BM, Goldenberg RL, Meis PJ, et al. The preterm prediction study: prediction of preterm premature rupture of membranes through clinical findings and ancillary testing. *Am J Obstet Gynecol*, 183:738-745, 2000.
183. Fam NP, Arab S, Billia F, Han R, Proteau G, Latter D, Errett L, Bonneau D, Dunne R, Liu PP, Stewart DJ. Increased myocardial expression of angiopoietin-2 in patients undergoing urgent surgical revascularization for acute coronary syndromes. *Can J Cardiol*, 26:365-370, 2010.
184. Bartus C, Brown LF, Bonner MY, Arbiser JL. High level expression of angiopoietin-2 in human abscesses. *J Am Acad Dermatol*, 64:200-201. 2011
185. Vaki I, Kranidioti H, Karagianni V, Spyridaki A, Kotsaki A, Routsis C, Giamarellos-Bourboulis EJ. An early circulating factor in severe sepsis modulates apoptosis of monocytes and lymphocytes. *J Leukoc Biol*, 89:343-349, 2011.
186. Avraham HK, Jiang S, Fu Y, Nakshatri H, Ovadia H, Avraham S. Angiopoietin-2 mediates blood-brain barrier impairment and colonization of triple-negative breast cancer cells in brain. *J Pathol*. 232(3):369-81, 2014.
187. Buddingh KT, Koudstaal LG, van Santvoort HC, Besselink MG, Timmer R, Rosman C, van Goor H, Nijmeijer RM, Gooszen H, Leuvenink HG, Ploeg RJ, Nieuwenhuijs VB. Early angiopoietin-2 levels after onset predict the advent of severe pancreatitis, multiple organ failure, and infectious complications in patients with acute pancreatitis. *J Am Coll Surg*, 218:26-32, 2014.
188. Aref S, Goda H, Abdelaal E. Circulating Vascular Growth Factor (VEGF) Angiopoietin-1 (Angi-1) and Soluble Tie-2 Receptor in Pregnancy

Complicated with Pre-eclampsia: A Prospective Study. J Obstet Gynaecol India, 63:316-320., 2013.

189. Leinonen E, Wathén KA, Alfthan H, Ylikorkala O, Andersson S, Stenman UH, Vuorela P. Maternal serum angiopoietin-1 and -2 and tie-2 in early pregnancy ending in preeclampsia or intrauterine growth retardation. J Clin Endocrinol Metab, 95:126-133, 2010.
190. Daponte A, Deligeoroglou E, Pournaras S, Tsezou A, Garas A, Anastasiadou F, Hadjichristodoulou C, Messinis IE. Angiopoietin-1 and angiopoietin-2 as serum biomarkers for ectopic pregnancy and missed abortion: a case-control study. Clin Chim Acta, 415:145-151, 2013.
191. Schneuer FJ, Roberts CL, Ashton AW, Guilbert C, Tasevski V, Morris JM, Nassar N. Angiopoietin 1 and 2 serum concentrations in first trimester of pregnancy as biomarkers of adverse pregnancy outcomes. Am J Obstet Gynecol. pii: S0002-9378(13)02011-5, 2013.
192. Wang M, Chen J, Ying J, Yu J, Huang B, Ren Z, Wang X, Guo Q, Wang Y, Qiu L, Yu H, Wan R. Serum angiopoietin-2 and β -hCG as predictors of prolonged uterine bleeding after medical abortion in the first trimester. PLoS One, 8:e63755, 2013.
193. Wang Y, Tasevski V, Wallace EM, Gallery ED, Morris JM. Reduced maternal serum concentrations of angiopoietin-2 in the first trimester precede intrauterine growth restriction associated with placental insufficiency. BJOG, 114:1427-1431, 2000.
194. Woolnough C, Wang Y, Kan CY, Morris JM, Tasevski V, Ashton AW. Source of angiopoietin-2 in the sera of women during pregnancy. Microvasc Res, 84:367-374, 2012.
195. Pacora P, Romero R, Chaiworapongsa T, Kusanovic JP, Erez O, Vaisbuch E, Mazaki-Tovi S, Gotsch F, Jai Kim C, Than NG, Yeo L, Mittal P, Hassan SS. Amniotic fluid angiopoietin-2 in term and preterm parturition, and intra-amniotic infection/inflammation. J Perinat Med, 37:503-511, 2009.
196. Buhimschi CS, Bhandari V, Dulay AT, Thung S, Razeq SS, Rosenberg V, Han CS, Ali UA, Zambrano E, Zhao G, Funai EF, Buhimschi IA. Amniotic fluid

angiopoietin-1, angiopoietin-2, and soluble receptor tunica interna endothelial cell kinase-2 levels and regulation in normal pregnancy and intraamniotic inflammation-induced preterm birth. *J Clin Endocrinol Metab*, 95:3428-3436, 2010.

197. Hurliman AK., Speroff L, Stouffer RL, Patton PE, Lee A, Molskness TA. Changes in circulating levels and ratios of angiopoietins during pregnancy but not during the menstrual cycle and controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril*, 93:1493-1499, 2010.
198. Guo B, Wang W, Li SJ, Han YS, Zhang L, Zhang XM, Liu JX, Yue ZP. Differential expression and regulation of angiopoietin-2 in mouse uterus during preimplantation period. *Anat Rec (Hoboken)*, 295:338-46, 2012.
199. Huber A, Grimm C, Pietrowski D, Zeillinger R, Bettendorf H, Husslein P, Hefler L. An Angiopoietin-2 gene polymorphism in unexplained intrauterine fetal death: a multi-center study. *J Reprod Immunol*, 65:47-53, 2005.
200. Fox CE, Lash GE, Pretlove SJ, Chan BC, Holder R, Kilby MD. Maternal plasma and amniotic fluid angiogenic factors and their receptors in monochorionic twin pregnancies complicated by twin-to-twin transfusion syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 35:695-701, 2010.
201. Birk RZ, Burstein E, Wiznitzer A. Placental angiopoietin-1 and angiopoietin-2 expression and correlation with birth weight in twins. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 17:337-342, 2005.
202. Evangelinakis NE, Polyzou EN, Salamalekis GE, Kotsaki AJ, Chrelias CG, et al. Alterations in the cellular component of the maternal immune system in a murine preterm delivery model. *J Matern Fetal Neonatal Med* 26:1024-1029, 2013.
203. Kranidioti H, Orfanos SE, Vaki I, Kotanidou A, Raftogiannis M, et al. Angiopoietin-2 is increased in septic shock: evidence for the existence of a circulating factor stimulating its release from human monocytes. *Immunol Lett*, 125: 65-71, 2009.

204. Carrer DP, Kotzampassi K, Fyntanidou B, Grosomanidis V, Papapetropoulos A, et al. Modulation of the release of Ang-2 in experimental endotoxic shock by a species-specific circulating factor. *Injury*, 44:935-940, 2013
205. Sayres WG. Preterm labor. *Am Fam Physician*, 81: 477-484, 2010.
206. Tzepi IM, Giamarellos-Bourboulis EJ, Carrer DP, Tsaganos T, Claus RA, et al. Angiopoietin-2 enhances survival in experimental sepsis induced by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Pharmacol Exp Ther*, 343: 278-287, 2012.
207. Buhimschi CS, Bhandari V, Dulay AT, Thung S, Razeq SS, et al. Amniotic fluid angiopoietin-1, angiopoietin-2, and soluble receptor tyrosine kinase-2 levels and regulation in normal pregnancy, 2010
208. Thurston G. Role of angiopoietins and Tie receptor tyrosine kinases in angiogenesis and lymphangiogenesis. *Cell Tissue Res*, 314: 61-68, 2003
209. Roviezzo F, Tsigkos S, Kotanidou A, Bucci M, Brancaleone V, et al. Angiopoietin-2 causes inflammation in vivo by promoting vascular leakage. *J Pharmacol Exp Ther*, 314:738-744, 2005.
210. Geva E, Ginzinger DG, Zaloudek CJ, Moore DH, Byrne A, et al. Human placental vascular development: vasculogenic and angiogenic (branching and non-branching) transformation is regulated by vascular endothelial growth factor-A, angiopoietin-1, and angiopoietin-2. *J Clin Endocrinol Metab*, 87: 4213-4224, 2002.
211. Ma H, Zhu G. Expression of angiopoietin-1/-2 in the process of mouse embryo implantation. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 27: 200-202, 2007.
212. Geva E, Ginzinger DG, Moore DH, Ursell PC, Jaffe RB. In utero angiopoietin-2 gene delivery remodels placental blood vessel phenotype: a murine model for studying placental angiogenesis. *Mol Hum Reprod*, 11: 253-260, 2005.
213. Leinonen E, Wathén KA, Alfthan H, Ylikorkala O, Andersson S, et al. Maternal serum angiopoietin-1 and -2 and tie-2 in early pregnancy ending in preeclampsia or intrauterine growth retardation. *J Clin Endocrinol Metab*, 95: 126-133, 2010.

214. Daponte A, Deligeoroglou E, Pournaras S, Tsezou A, Garas A, et al. Angiopoietin-1 and angiopoietin-2 as serum biomarkers for ectopic pregnancy and missed abortion: a case-control study. *Clin Chim Acta*, 415:145-151, 2013.
215. Bany BM, Hamilton GS. Assessment of permeability barriers to macromolecules in the rodent endometrium at the onset of implantation. *Methods Mol Biol*, 763: 83-94, 2011.
216. Argilés JM, Carbó N, López-Soriano FJ. Was tumour necrosis factor- α responsible for the fetal malformations associated with thalidomide in the early 1960s? *Med Hypotheses*, 50:313-318, 1998.
217. Thomakos N, Daskalakis G, Papapanagiotou A, Papantoniou N, Mesogitis S, et al. Amniotic fluid interleukin-6 and tumor necrosis factor- α at mid-trimester genetic amniocentesis: relationship to intra-amniotic microbial invasion and preterm delivery. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 148:147- 151, 2010.
218. Holmgren C, Esplin MS, Hamblin S, Molenda M, Simonsen S, et al. Evaluation of the use of anti-TNF- α in an LPS-induced murine model. *J Reprod Immunol*, 78:134-139, 2008.
219. Burdet J, Sacerdoti F, Cella M, Franchi AM, Ibarra C. Role of TNF- α in the mechanisms responsible for preterm delivery induced by Stx2 in rats. *Br J Pharmacol*, 168: 946-953, 2012.

Περίληψη

Οι γνώσεις μας για τη συμμετοχή της αγγειοποιητίνης-2 (Ang-2) στη φλεγμονώδη διεργασία καθώς και για τη σημασία των βακτηριακών ενδοτοξινών (LPS) στην επαγωγή πρόωρου τοκετού οδήγησαν στη διερεύνηση της αλληλεπίδρασης της Ang-2 με την LPS στην παθογένεια του πρόωρου τοκετού. Σε ένα πρώτο στάδιο, μετρήθηκε η Ang-2 στο τέλος του πρώτου τριμήνου της κύησης σε: i) 40 γυναίκες που γέννησαν πρόωρα, ii) 88 γυναίκες που γέννησαν τελειόμηνες και ήταν συνταιριασμένες ως προς την ηλικία και τον αριθμό τοκετών, και iii) 20 γυναίκες μη γυναικές. Η Ang-2 βρέθηκε αυξημένη στις έγκυες σε σχέση με τις μη έγκυες γυναίκες. Το χρονικό διάστημα έως τον τοκετό ήταν μικρότερο για τις γυναίκες στις οποίες τα επίπεδα της Ang-2 ήταν μεγαλύτερα από 4ng/ml (σχετικός κίνδυνος για τοκετό πριν την 34^η εβδομάδα; p : 0,040). Προκειμένου να διερευνηθεί περαιτέρω ο ρόλος της Ang-2 στον πρόωρο τοκετό χρησιμοποιήθηκε ένα πειραματικό μοντέλο πρόωρου τοκετού στο οποίο ο πρόωρος τοκετός προκαλούνταν από την έγχυση LPS. Ειδικότερα, χορηγούνταν Ang-2 ενδοπεριτοναϊκά πριν από την χορήγηση LPS τη 14^η ημέρα της κύησης των επίμυων. Όταν η Ang-2 χορηγούνταν μετά τη χορήγηση της LPS τότε όλοι οι επίμυες γεννούσαν τελειόμηνα. Όταν, όμως, η χορήγηση της Ang-2 πραγματοποιούνταν πριν την χορήγηση της LPS τότε το χρονικό διάστημα έως τον τοκετό ελαττωνόταν σημαντικά. Μετά από θυσίες των επίμυων διαπιστώθηκε ότι αυτή η δράση της Ang-2 συνοδευόταν από ελάττωση της διείσδυσης του Evans Blue στα έμβρυα και από αύξηση στους ιστούς της μητέρας. Παράλληλα, η συγκέντρωση του παράγοντα νέκρωσης όγκων-α στην κυκλοφορία της μητέρας, τους εμβρυϊκούς ιστούς και τους πλακούντες ήταν σημαντικά ελαττωμένος. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι η Ang-2 επιταχύνει τα φαινόμενα πρόωρου τοκετού που επάγονται από την LPS. Το εύρημα αυτό σχετίζεται με ελαττωμένη διάχυση από τον πλακούντα και αιμάτωση του εμβρύου.

Abstract

Current knowledge on the participation of angiopoietin-2 (Ang-2) in the inflammatory process and on the importance of bacterial endotoxins (LPS) in the induction of preterm delivery (PTD) led us to investigate the role of Ang-2/LPS interplay in the pathogenesis of PTD. At a first stage, Ang-2 was measured at the end of the first trimester of pregnancy in the serum of 50 women who delivered prematurely; of 88 women well-matched for age and parity who delivered full-term; and of 20 non-pregnant healthy women. Ang-2 was greater in pregnant than in non-pregnant women. The time until delivery was shorter among those with Ang-2 greater than 4ng/ml (odds ratio for delivery until week 34; p: 0.040). To further investigate the role of Ang-2 for PTD, an experimental model of PTD induced by the intraperitoneal injection of LPS in mice was used. Ang-2 was administered intraperitoneally before LPS on day 14 of pregnancy. When Ang-2 was administered before the LPS diluent, all mice delivered full-term. However, administration of Ang-2 prior LPS accelerated further the time until delivery. Sacrifice experiments showed that the effect of Ang-2 was accompanied by decrease of the penetration of Evans Blue in the embryos and by increase of its penetration in maternal tissues. In parallel, the concentration of tumour necrosis factor-alpha in the maternal circulation, in fetal tissues and in the placentas was significantly decreased. Results indicate that Ang-2 accelerated the phenomena of PTD induced by LPS. This is related with deprivation of fetal perfusion.