

UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET

Ljubinka I. Nikolić

**INFLAMATORNI ODGOVOR
PREVREMENO POROĐENIH ŽENA SA
INFLAMATORNIM BOLESTIMA
PARODONCIJUMA**

doktorska disertacija

Beograd, 2018

UNIVERSITY OF BELGRADE
MEDICAL FAKULTY

Ljubinka I. Nikolić

**INFLAMMATORY RESPONSE IN
PRETERM DELIVERY WOMEN WITH
INFLAMMATORY DISEASES OF
PERIODONTIUM**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018

MENTOR:

Prof. dr Darko Plećaš
Univerzitet u Beogradu,
Medicinski fakultet
Klinika za ginekologiju i akušerstvo

KOMENTOR:

Prof. dr Saša Čakić
Univerzitet u Beogradu
Stomatološki fakultet
Klinika za parodontologiju i oralnu medicinu

ČLANOVI KOMISIJE:

Prof. dr Snežana Plešinac
Univerzitet u Beogradu,
Medicinski fakultet
Klinika za ginekologiju i akušerstvo

Prof. dr Saša Janković
Univerzitet u Beogradu
Stomatološki fakultet
Klinika za parodontologiju i oralnu medicinu

Prof. dr Ana Pucar
Univerzitet u Beogradu
Stomatološki fakultet
Klinika za parodontologiju i oralnu medicinu

INFLAMATORNI ODGOVOR PREVREMENO POROĐENIH ŽENA SA INFLAMATORNIM BOLESTIMA PARODONCIJUMA

SAŽETAK

Uvod. Prevremeni porođaj je onaj porođaj koji se dogodi pre navršene 37. nedelje trudnoće. Prevalenca prevremenog porođaja u svetu se kreće od 5% do 13.3%. Prevremeni porođaj može biti uzrokovan mnogobrojnim patološkim procesima kao i bolestima majke ili fetusa. Jedan od prepoznatih uzroka prevremenog porođaja je intraamnijska infekcija. Intraamnijska infekcija indukuje produkciju proinflammatoryh citokina karakterističnih za terminski porođaj uključujući factor nekroze tumora alfa (TNF)- α , IL-8, IL-6, IL-1 β i PGE2. U nekim slučajevima prevremenog porođaja u amnijskoj tečnosti se ne mogu detektovati mikrobiološki agensi ni gajenjem u kulturi ni drugim osetljivijim mikrobiološkim tehnikama uprkos povećanim nivoima citokina u amnijskoj tečnosti.

Literaturni podaci ukazuju da se, u slučajevima prevremenog porođaja sa sterilnom antramnionskom inflamacijom, citokini produkuju u procesu infekcije ili inflamacije na udaljenom mestu u organizmu. Na taj način stvoreni citokini cirkulacijom dospevaju do fetoplacentarne jedinice, prolaze placentarnu barijeru i u momentu kada dostižu kritičnu koncentraciju stimulišu porođaj. Ova zapažanja su u skladu sa Miller-ovom (Miller) teorijom žarišta iz 1891. Godine. Mikrobiološka i imunološka istraživanja kao i studije na animalnom modelu ukazuju da periodontalni procesi mogu uticati na fetoplacentarnu jedinicu i indukovati prevremeni porođaj.

Periodontalna oboljenja su infektivna oboljenja čiji je ishod inflamacija specifičnih tkiva koja okružuju zub i predstavljaju njegovu potporu. Postoje dve glavne kategorije periodalnog oboljenja: a) gingivitis-nedestruktivna i reverzibilna inflamacija gingival i b) periodontitis-destruktivna inflamacija potpornog tkiva zuba.

Gingivitis je reverzibilna i nedestruktivna inflamacija gingiva prouzrokovana nespecifičnim bakterijama. Ako gingivitis perzistira kasnije može dovesti do periodontitisa.

Periodontitis je destruktivno inflamatorno oboljenje potpornih tkiva zuba. Kao odgovor na infekciju/inflamaciju produkuju se proinflamatorni citokini (IL-1 β , IL-6 i TNF- α) i prostaglandini (PGE1 i PGE2).

Permeabilnost krvnih sudova je povećana čime je omogućena difuzija citokina u krvotok a time i sistemski uticaj na domaćina.

Tokom drugog i trećeg trimestra trudnoće gingivalna/periodontalna inflamacija često postaje izraženija. Analize amnionske tečnosti prevremeno porođenih žena bez horioamnionitisa pokazuju povećane nivoe inflamatornih citokina. Maternalna periodontalna infekcija predstavlja rezervoar inflamatornih medijatora i citokina (TNF- α , IL-1, IL-6 i PGE2) koji mogu delovati na fetoplacentarnu jedincu i na sam ishod trudnoće. Prema podacima iz literature, stepen periodontalne inflamacije korelira sa nivoom citokina. Pored toga, ustanovljeno je da na stepen periodontalnog oboljenja utiče sekretorni status.

Osobe kod kojih se antigeni krvnih grupa nalaze i na površini ćelija i u salivi i drugim telesnim tečnostima nazivaju se sekretori. Krvnogrupni antigeni se kod non-sekretora nalaze samo na površini ćelija ali se ne detektuju u telesnim tečnostima. Krvnogrupne supstance u telesnim tečnostima sekretora (A, B, H, Lewis b, Lewis y) su glikoproteini. Krvnogrupni antigeni i drugi oligosaharidi predstavljaju receptore za bakterijsku adheziju i na taj način regulišu bakterijski sastav usne duplje – oralni mikrobiom. Vezivanjem patogena za ove receptore aktiviraju se određeni signalni putevi koji utiču na imunski odgovor. Zbog toga su sekretori izvesni fenotipovi sekretora/non-sekretora povezani sa nekim metaboličkim i infektivnim oboljenjima. Istraživanja ukazuju da su non-sekretori u podložniji nekim infekcijama i mogu biti prenosioci patogenih mikroorganizama. U skladu sa ovim podacima non-sekretori su u povećanom riziku od inflamatornih oboljenja, pekancerskih i kancerskih lezija kao i za razvoj periodontitisa. Sve u svemu ezultati istraživanja su nekonzistentni a kombinovani uticaj ovih faktora na rizik od prevremenog porođaja još nije istražen.

Cilj. Imajući u vidu povezanost periodontitisa i sekretornog statusa kao i povezanost između medijatora inflamacije, inflamatornih bolesti potpornog aparata zuba i prevremenog porođaja postavljena je hipoteza da u nekim slučajevima rizik od prevremenog porođaja može biti povezan sa nivoom citokina i sekretornim statusom kod žena sa inflamatornim bolestima potpornog aparata zuba.

U skladu sa tim, cilj naše studije je da ispita povezanost inflamatornih bolesti potpornog aparata zuba, sekretornog statusa i nivoa IL-1 β , IL-6, TNF-alfa i PGE2 kod prevremeno porođenih žena.

Materijal i metode. Stodvanaest žena je uključeno u studiju (56 prevremeno porođenih I 56 žena porođenih u terminu kao kontrola) starosne dobi od 17 do 41 godine. Uzorkovanje krvi i salive kao i ispitivanje stanja parodonticijuma izvedeno je u prvih 48 sati nakon porođaja. Uključene su samo majke sa jednoplodnom trudnoćom . Uzorkovanje krvi i salive sprovedeno je neposredno pre ispitivanja parodontalnog statusa. Uzorci krvi su uzimani u epruvete EDTA Vacutainer® (Becton Dickinson, UK). Nestimulisana pljuvačka je uzimana u staklene epruvete od 10 ml. Svaki deo krvi i salive je korišćen samo u jednom testu. Ispitivanje parodonticijuma je izvedeno u šest mesta po zubu od strane istog iskusnog istraživača. U skladu sa postojećom klasifikacijom parodontalni status je definisan kao: zdrav parodonticijum, gingivitis i periodontitis. Krvne grupe ABO i Rh sistema su određivane standarnom hemaglutinacionom tehnikom. Sekretorni status je određivan iz uzoraka termički obrađene salive metodom inhibicije hemaglutinacije. Koncentracije IL1-beta, IL-6, TNF alfa i PGE2 su određivane komercijalnim visokoosetljivim enzimskim testovima (ELISA) prema uputstvu proizvođača.

Rezultati. U studiju je uključeno 112 žena (56 porođenih prevremeno i 56 porođenih u terminu). Ispitivane grupe su bile homogene u odnosu na godine starosti i paritet. U grupi prevremeno porođenih žena zastupljenost novorođenčadi muškog pola bila je statistički značajno veća ($p < 0.01$) nego u kontrolnoj grupi (57.2 % vs 39.3%). Odnos dečaka i devojčica u grupi prevremeno porođenih bio je 1.33:1. Novorođenčad prevremeno porođenih majki imali su značajno niži Apgar skor ($p < 0.01$). Zastupljenost periodontitisa je bila značajno veća ($p < 0.001$) u grupi prevremeno porođenih žena u poređenju sa kontrolnom grupom (66.1% vs 12.5%). U grupi sa zdravim parodonticijumom bilo je samo 11.4% non-sekretora dok je u grupi sa periodontitisom bilo 31.8% non-sekretora. Bilo je značajno više (83.3%) prevremenih porođaja među ženama non-sekretora sa periodontitisom u odnosu na ostale ispitivane kategorije. Koncentracije IL-1 β i PGE2 u plazmi su bile značajno više u grupi prevremeno porođenih žena u odnosu na žene porođene u terminu. Postoji značajna korelacija između salivarnih nivoa PGE2 i IL1- β ($R=0.416$, $p=0.017$) kao i između plazma

koncentracija IL1- β i PGE 2 ($R = -0.592$, $p < 0.001$) u grupi sa prevremenim porođajem. Ove korelacije ne postoje kod žena koje su imale terminski porođaj. Značajna negativna korelacija je ustanovljena između koncentracija IL6 i TNF alfa u plazmi i grupi prevremeno porođenih ($R = -0.413$, $P = 0.004$) i u grupi žena porođenih u terminu ($R = -0.661$, $P = 0.00013$). IL-6 je bio viši kod žena sa periodontitisom u poređenju sa ženama koje su male gingivitis. Žene sa zdravim parodontijumom su imale značajno najniže vrednosti PGE2 u odnosu na žene sa gingivitisom i periodontitisom. Nivo IL 1-beta u grupi prevremeno porođenih žena non-sekretora je bio značajno viši u odnosu na sve ostale grupe ($P < 0.001$). U grupi žena non-sekretora nije bilo ni jedne osobe sa zdravim parodontijumom.

Zaključak. U skladu sa hipotezom nivoi citokina su bili značajno viši u grupi žena non-sekretora koje su prevremeno porođene. U najvećoj meri su povećani IL1- β i PGE2. Između nivoa IL1- β i PGE2 zapažena je statistički signifikantna korelacija u grupi prevremeno porođenih žena non-sekretora u poređenju sa kontrolnom grupom. Značajna korelacija postoji između IL1- β i TNF- α kao i između IL-6 i TNF- α u grupi prevremeno porođenih žena. U kontrolnoj grupi ovaj vid korelacije nije zapažen. Rezultati istraživanja su uskladu sa hipotezom da periodontitis i nonsekretorstvo bar delom utiči na patogenezu prevremenog porođaja. Navedeni rizični faktori su najverovatnije surogat za genetička i epigenetička uzroke prevremenog porođaja i ukazuju na potrebu za dodatnim istraživanjima na polju biologije porođaja kod ljudi. Prevremeni porođaj je kompleksni sindrom i još uvek ima nepoznatih faktora koji su odgovorni za prevremeni porođaj. Etiologija prevremenog porođaja je još uvek nepoznata, jer je prevremeni porođaj kompleksni sindrom sa brojnim kofaktorima uključujući interakciju između genetičkih, imunskih faktora i faktora sredine. Verujemo da će identifikacija markera genoma i proteoma, u budućim istraživanjima, rasvetliti povezanost između periodontitisa, sekretornog statusa i ishoda porođaja.

Ključne reči: Prevremeni porođaj, Parodontopatija, Gingivitis, Krvna grupa, Sekretorni status, citokini, IL-1 beta, IL-6, PGE2, TNF-alfa

Naučna oblast: Medicina

Uža naučna oblast: Ginekologija i akušerstvo

UDK:

INFLAMMATORY RESPONSE IN PRETERM DELIVERY WOMEN WITH INFLAMMATORY DISEASES OF PERIODONTIUM

ABSTRACT

Introduction. Preterm birth (PTB) is defined as a delivery prior to the completed 37th week of gestation. The global prevalence rate of preterm birth is ranging from 5% to 13.3%. PTB is associated with multiple pathological processes such as medical conditions of the mother or fetus. Intra-amniotic infection has been causally linked to PTB. Intra-amniotic infection induces the production of pro-inflammatory cytokines, involved in term delivery, including tumor necrosis factor (TNF)- α , IL-8, IL-6, IL-1 β , and PGE2. In some cases of PTB microorganisms cannot be detected by cultivation and other microbiology techniques despite high levels of cytokines in amniotic fluid. Literature data suggest that in cases of PTB with sterile intra-amniotic inflammation, cytokines are produced in distant part of the body due to infection and inflammation, cross the placental barrier, and when they reach appropriate quantities stimulate labor. This statement is in accordance with Miller's focal infection theory published in 1891. Microbiological, immunological and animal model studies suggested that periodontal processes may influence to the fetoplacental unit and induce preterm delivery. Periodontal diseases are infectious diseases that result in the inflammation of the specialized tissues that both surround and support the teeth. There are two major categories of periodontal diseases: a) Gingivitis – non-destructive and reversible gingival inflammation and b) Periodontitis – destructive inflammation of teeth supporting tissues. Gingivitis is a mainly reversible and nondestructive gingival inflammation related to a non-specific bacterial challenge. When gingivitis is persistent, it can further lead to periodontitis. Periodontitis is a destructive inflammatory disease of the supporting tissues of the teeth. Pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, and TNF- α) and prostaglandins (PGE1 and PGE2) are produced in response to infection. Vascular permeability is also increased – allowing the diffusion of cytokines into the blood flow which may have systemic effects on the host. During the second and third trimester of pregnancy, the gingival/periodontal inflammation often becomes more severe. Analysis of amniotic fluid obtained at the time of preterm birth without chorio-

amnionitis shows elevated levels of inflammatory cytokines. Maternal periodontal infections provide a chronic reservoir of inflammatory mediators and cytokines (TNF- α , IL-1, IL-6, and PGE2) that could adversely affect feto-placental unit and pregnancy outcome. According to literature data, degree of periodontal inflammation correlates with cytokines levels. Furthermore, it has been shown that the degree of the periodontal disease is influenced by secretor status. Individuals who express blood group antigens on cells surface, and in the saliva and other body fluids are termed secretors. Blood group antigens in non-secretors are present on cells surface but not in body fluids. Blood group substances in secretors body fluids (A, B, H, Lewis b, Lewis y) are glycoproteins. Blood type antigens and other oligosaccharides act as receptors for bacterial adhesion and regulate the oral bacteria – oral microbiome. Binding of pathogens to these receptors activates a distinct signaling pathway that shapes the immune response. Therefore, secretor/non-secretor phenotypes are associated with some metabolic and infectious diseases. Recent evidence suggests that non-secretors are at increased risk of carrying some pathogenic microorganisms in their body. In accordance with these data, non-secretors are at increased risk of inflammatory diseases, pre-cancerous and cancerous lesions along with periodontitis. Overall, the study findings are inconsistent and the combined influence of these factors on the risk of preterm birth has not been explored.

Aim. Given the established link between periodontitis and secretor status as well as the association between inflammatory mediators, periodontitis, and preterm birth we hypothesized that in some instances risk for preterm birth could be associated with the co-occurrence of increased cytokine levels and secretor status in women with periodontitis.

Therefore, the purpose of our study was to investigate the associations between periodontal diseases, secretor status, and IL-1 β , IL-6, TNF-alpha and PGE2 levels in women with preterm birth .

Materials and methods. One hundred and twelve women (56 preterm delivery women and 56 women delivered at term as a control) aged between 17 and 41 years were recruited in the study. Blood sampling, saliva sampling, and periodontal examination were performed within 48 hours following delivery. Only mothers with a singleton gestation were included in the study. Blood and saliva sampling was

performed just before periodontal examinations. Blood samples were collected in EDTA Vacutainer® tube (Becton Dickinson, UK). Unstimulated whole saliva was collected in 10 ml glass tubes. Each aliquot of saliva and blood samples was used only once in an assay, and then discarded. Clinical assessment of the periodontium was performed in six sites per tooth by one same experienced examiner. According to the classification of periodontal diseases, periodontal status was defined as: healthy periodontium, gingivitis, and periodontitis. ABO and Rh blood groups were determined by standard haemagglutination method, and secretor and non-secretor phenotypes were evaluated by boiled saliva samples using the haemagglutination inhibition method. The concentrations of IL1 beta, IL-6, and TNF alpha and PGE2 were measured by commercially available High Sensitivity enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) following the manufacturers' instructions.

Results. A total of 112 women (56 PTB and 56 FTB) were included in this study. Tested groups were homogenous comparing to age and parity. Distribution of foetal gender shows a higher representation of male gender in the PTB group comparing to the FTB group of patients (57.2 % vs 39.3%), which makes a statistically significant difference ($p < 0.01$). The number of newborn boys comparing to the newborn girls in PTB group was 1.33:1. Newborns of mothers who delivered preterm had significantly lower Apgar score ($p < 0.01$). The representation of periodontitis is significantly higher ($p < 0.001$) in the PTB group in comparison to the control group (66.1% vs 12.5%). In the group with a healthy periodontium we have only 11.4% of non-secretors while in the group with periodontitis we have 31.8% of non-secretors. There is significantly greater number (83.3%) of non-secretors preterm birth women with periodontitis compared to other periodontal disease categories. Plasma values of IL-1 β and PGE2 were significantly higher in preterm birth group compared to full term birth group. In the preterm group there were a significant correlation between salivary levels of PGE2 and IL-1 β ($R = 0.416$, $p = 0.017$) and between and plasma concentrations of IL-1 β and PGE2 ($R = -0.592$, $p < 0.001$). In women who delivered at term these correlations were failed to be found. The significant negative correlations was identified between plasma concentrations of IL6 and TNF alpha in both preterm and full term group ($R = -0.413$, $P = 0.004$; $R = -0.661$, $P = 0.00013$) respectively. IL-6 was higher in women with periodontitis compared to women with gingivitis. Women with healthy periodontium

had the lowest level of PGE2 compared to women with both periodontitis and gingivitis. The level of IL 1-beta in the PTB non-secretor subgroup was significantly higher than in other groups ($P < 0.001$). In the preterm group non-secretor mothers there were no subjects with healthy periodontium.

Conclusion. Consistent with the hypothesis, plasma levels IL1- β and PGE2 were significantly higher in non-secretor women delivered preterm. There was a strong correlation between IL1- β and PGE2, IL1- β and TNF- α as between IL-6 and TNF- α levels in preterm group compared with control. These data support the hypothesis that non-secretor phenotype and periodontitis are at least in part responsible for pathogenesis of PTB and the probability of negative impact of non-secretor status cannot be ignored. Aforementioned risk factors are surely a surrogate for genetic and epigenetic causes of preterm birth, and support the need for additional research into the biology of human parturition. PTB is a complex syndrome and there are other unknown factors responsible for the PTB. The etiology of spontaneous PTB is still unknown because PTB is a complex syndrome with different co-factors, involving a complex interaction between genetic, immunological and environmental factors. We believe that the identification of genomic and proteomic markers may represent an added value in the further investigation of the association between periodontitis, secretor status and adverse pregnancy outcomes.

Key words: Preterm birth, Periodontitis, Gingivitis Blood Group, Secretory status, IL-1 beta, IL-6, PGE2, TNF-alpha

Scientific Field:, Medicine

Scientific Field Specialized: Gynecology and Obstetrics

UDC:

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Uzroci prevremenog porođaja	2
1.1.1. Medicinske i obstetričke komplikacije.....	2
1.1.2. Socioekonomski	4
1.1.3. Fizička aktivnost u trudnoći	5
1.1.4. Genetski faktori	5
1.1.5. Epigenetski faktori	7
1.1.6. Infekcija genitalnog trakta žene	7
1.1.7. Prevremeni porođaj nepoznate etiologije	12
1.2. Inflamatornaoboljenja parodocijuma	14
1.2.1. Gingivitis	14
1.2.2. Periodontitis	15
1.3. Sekretorni status	16
1.4. Medijatori inflamacije.....	17
1.4.1. Interleukin-1beta (IL-1beta)	17
1.4.2. Interleukin-6 (IL-6).....	18
1.4.3. Faktor nekroze tumora-alfa (TNF-alfa).....	22
1.4.4. C-reaktivni protein (CRP)	24
1.4.5. Prostaglandin E2 (PGE2)	26
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	28
3. MATERIJAL I METODE	29
4. REZULTATI	35
5. DISKUSIJA	55
6. ZAKLJUČCI	71
7. LITERATURA	73

1. UVOD

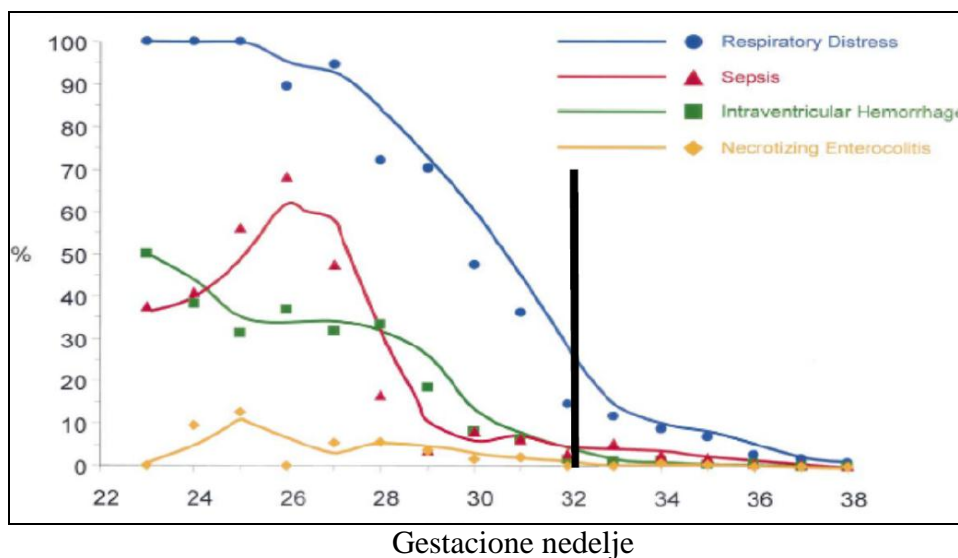
Prevremeni porođaj je, prema definiciji Svetske Zdravstvene Organizacije (SZO), onaj porođaj koji se dogodi pre navršene 37. nedelje gestacije (Blencowe H 2013). Prevalenca prevremenog porođaja u svetu se kreće od 7.3% do 13.3% (Beck S 2010). Prevremeni porođaj je vodeći uzrok perinatalnog morbiditeta i mortaliteta. Dve trećine prevremenog porođaja se javlja nakon spontanog otpočinjanja porođaja. Prevremeni porođaj može nastati usled mnogobrojnih patoloških procesa kao što su: multipla trudnoća, bolesti majke ili fetusa, genetski uticaju, izlaganje štetnim agensima životne okoline, lečenje infertiliteta i štetne navike. Pored spontanog porođaja u poslednje vreme je u porastu jatrogeni prematuritet. Jedan od riziko faktora za prevremeni porođaj je muški pol deteta (Shiozaki 2014, Romero R 2014). Prema gestacionoj starosti prevremeni porođaj se deli na izuzetno rani PP (pre 28 nedelje gestacije), značajno rani (između 28 i 32 nedelje gestacije), umereno rani PP (od 32 do 34 nedelje gestacije) i kasni rani (od 34 do 37. nedelje gestacije) (Villar J 2012). Prevremeni porođaj predstavlja značajan zdravstveni problem u svim zemljama sveta kao u razvijenim tako i u zemljama u razvoju. Prevremeni porođaj je vodeći uzrok smrtnog ishoda novorođenčadi u prvom mesecu života i drugi po redu uzrok smrti dece ispod pet godina života. Procenjuje se da se godišnje prevremeno rodi oko 15 miliona dece od čega 1 milion završava smrtnim ishodom (Chang HH 2013).

Deca rođena pre vremena imaju karakteristike nezrelog organizma, sporije se adaptiraju na uslove spoljašnje sredine i imaju povećan rizik za razvoj bolesti i multiorganskih poremećaja. Kod prevremeno rođene dece se češće razvija nekrotizujući enterokolitis, respiratorni distress sindrom, nozokomijalna sepsa, intrakranijalna hemoragija, prematurusna retinopatija i periventrikularna leukomalacija (Khalesi N 2015, Brouwer A 2008, Lin HY 2006). Zbog nezrelosti urođene i stečene imunosti prematutrusi su imunokompromitovani i veoma su podložni razvoju infekcija koje u najvećoj meri doprinose stopi smrtnosti novorođenčadi (Lawn JE 2012). Broj

komplikacija se sa gestacionom starošću i zrelošću novorođenčeta smanjuje (slika 1.) (Mercer BM 2003).

1.1. Uzroci prevremenog porođaja

Danas se kao glavni etiološki činioci prevremenog porođaja navode: 1) medicinske i opstetričke komplikacije (preeklampsija, autoimune bolesti, metaboličke bolesti, abrupcija placente, fetalna smrt), 2) socioekonomski faktori i navike (pušenje, korišćenje alkohola i droga, slaba uhranjenost trudnice, psihološki stres, težak fizički rad) 3) genetski faktori 4) terapijski postupci 5) infekcije (manifestne i subkliničke infekcije amnionske tečnosti, infekcije urinarnog trakta) i 6) nepoznata etiologija.



Slika 1. Prikaz komplikacija kod prematurusa u odnosu na gestacionu starost
Preuzeto iz: Mercer BM 2003.

1.1.1. Medicinske i obstetričke komplikacije kao uzrok prevremenog porođaja

Najčešće komplikacije, u aktuelnoj trudnoći, koje dovode do prevremenog porođaja su abrupcija placente, preeklampsija i HELLP sindrom, multipla trudnoća i

skraćeni grlić materice. Kod žena koje su imale prethodni prevremeni porođaj verovatnoća da se i sledeća trudnoća završi pre termina je čak oko 20%. Ukoliko je žena imala dva prevremena porođaja rizik je preko 50% da će sledeći porođaj biti prevremeni. Multiple trudnoće se, takođe, veoma često završavaju prevremeno (Carr-Hill 1985, Kristensen1995, Mazaki-Tovi S.2007).

Žene koje su se same rodile prevremeno su u većem riziku da se porode pre vremena. One žene koje su rođene pre 32. nedelje gestacije imaju 1.6x veći rizik da se prevremeno porode, dok je rizik, za žene rođene između 32 i 36 nedelje, nešto manji i iznosi 1.4 (Jaberi 2018, Boivin 2015).

Strukturne anomalije uterusa i cerviksa u velikoj meri utiču na tok trudnoće i predstavljaju rizik za prevremeni porođaj.

Kratak interval između prethodne i sledeće trudnoće često dovodi do prevremenog porođaja. U slučajevima kada je, između dve sukcesivne trudnoće interval kraći od godinu dana prevremeni porođaj se javlja kod oko 20% žena. Ukoliko je interval između dve trudnoće od jedne godine do 18 meseci prevremeni porođaj se javlja u oko 10% slučajeva i ako je interval duži od 18 meseci prevremeni porođaj se javlja u manje od 8% slučajeva.

Hormonske promene kao što je aktivacija hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine, takođe, može doprineti mehanizmu prevremenogporođaja, naročito kasnog prevremenog porođaja (Petraglia 2010). Dokazano je da genetski i hormonalni signali direktno utiču na kontraktilnost miometrijuma. Žene u riziku za prevremeni porođaj imaju povećanu reaktivnost na hormonske signale, uključujući i progesteron. Ova istraživanja za sada nisu dala definitivne rezultate kako bi se mogla upotrebiti u personalizovanom pristupu terapiji (Rood 2017).

Intervencije i terapijski postupci u akušerstvu mogu sa svoje strane doptineti pojavi prevremenog porođaja. Prekidi trudnoće u prvom tromesečju, bilo metodom aspiracije bilo kretazom mogu dovesti do prevremenog porođaja u narednim trudnoćana. Primena dietilstilbestrola – E2, lečenje infertiliteta, takođe je povezano sa prevremenim porođajem

Neke obsterične faktore kao što su malformacije uterusa ne možemo kontrolisati dok drugi kao što su socioekonomski faktori podležu našim uticajima i može se bar delimično umanjiti njihov uticaj na ishod trudnoće.

1.1.2. Socioekonomski faktori kao uzrok prevremenog porođaja

Na pojavu prevremenog porođaja utiču mnogobrojni socioekonomski faktori i uslovi sredine (Vieira 2018). Ishrana igra važnu ulogu na tok trudnoće (Bloomfield FH2011). U područjima gde se u ishrani koriste riba i plodovi mora mnogo je manje prevremenih porođaja i zastoja u intrauterinom rastu ploda (Kuper SG, 2017). Ishrana bogata omega 3 nezasićenim masnim kiselinama doprinosi smanjenju stope ponovnog prevremenog porođaja (Saccone G 2015, Yelland 2016). Nedostatak vitamina ili ishrana deficitna u vitaminu C, vitamin B12 i vitaminu E se, takođe, smatra faktorom rizika za nepovoljan tok i ishod trudnoće (Zetterberg 2002). Prve studije o uticaju nutritivnih faktora na dužinu gestacije izvedene su još 1938. i 1939. godine a onda su naknadno ponovljene od strane Olsen-a i saradnika 1990. (Olsen SF 1990, Rumbold AR 2006). Novija istraživanja, uvođenjem ishrane bogate nezasićenim masnim kiselinama dugog lanca, su ukazala na mogućnost sprečavanja prevremenog porođaja ili sprečavanja prevremenog porođaja pre 34. nedelje gestacije (Zhou 2017, Ostadrahimi A 2017, Carlson SE 2013)

Istraživanja su pokazala da je izlaganje majke štetnim uticajima sredine, naročito česticama čiji je aerodimamični promer manji od 2.5 μm , nezavisni rizični factor za prevremeni porođaj (Malley CS 2017).

Stres je jedan od bitnih faktora koji može dovesti do prevremenog porođaja. Porast nivoa kortikosteroida, usled stresa, dovodi do porasta nivoa PGE2 glavnog medijatora u pokretanju porođaja. Istraživanja pokazuju da stress kao poskedinica psihološke trauma može pokrenuti oslobađanje hormona koji dovode do uterusnih kontrakcija (Wadhwa 2001).

Rizik za prevremeni porođaj predstavlja i starost trudnice. i previše mlade i trudnice u odmaklim godinama su u riziku za prevremeni porođaj. Suviše mlade trudnice, mlađe od 17 godina, se neredovno hrane, ne uzimaju vitamine, imaju slab prirast u težini i izbegavaju da se podvrgnu lekarskim pregledima. S druge strane, trudnice starije životne dobi često imaju pridružene komorbiditete kao što su hipertenzija, dijabetes, oboljenja srca i brubrega. Ova stanja dovode do komplikacija u trudnoći koje ne retko dovode do prevremenog porođaja (Schummers 2018).

Stil života i navike mogu doprineti prevremenom porođaju i rođenju deteta male telesne mase. Najčešće pojave su pušenje cigareta i konzumiranje alkohola a u nekim slučajevima i zloupotreba droga. Žene koje puše u trudnoći rađaju decu manje telesne mase, češće imaju abrupciju placente i u većem procentu imaju prevremenu rupturu plodovih ovojaka i češće se porođaju prevremeno (Kuper 2017).

1.1.3. Fizička aktivnost u trudnoći.

Umereno vežbanje u trudnoći ne povećava rizik od prevremenog porođaja i lošeg ishoda trudnoće. Redovno vežbanje umanjuje intenzitet simptoma koji prate trudnoću, smanjuje dužinu trajanja porođaja i smanjuje komplikacije naročito kod trudnica sa dijabetesom.

Međutim, težak fizički rad predstavlja factor rizika za nastanak prevremenog porođaja. Intenzivna fizička aktivnost u trudnoći redukuje dotok krvi u fetoplacentarnu jedinicu jer se veći deo krvi usmerava ka angažovanim mišićima tako da je smanjen dotur kiseonika i hranljivih materija ka fetusu i placenti i u isto vreme je smanjena mogućnost otklanjanja produkata metabolizma. U socijalno ugroženoj sredini najčešće prisutno više faktora zajedno: slaba ishrana, stresna situacija i težak fizički rad (Maisonneuve E 2016).

1.1.4. Genetski faktori.

Na prevremeni porođaj utiču i maternalni i fetalni geni. Podaci dobijeni istraživanjem porodica i istraživanjem blizanačkih trudnoća ukazuju da na spontani prevremeni porođaj u velikoj meri utiče maternalna i fetalna genetika (Strauss JF 3rd 2018, Varner 2005). Upotreba sofisticirane genske i genomske tehnologije dala je skromne rezultate na otkriću konkretnih gena odgovornih za prevremeni porođaj. Međutim, analizom DNK identifikovane su DNK varijante koje su povezane sa odgovarajućim poremećajima. Naime, otkriveno je da je inflamatorni odgovor pod neposrednim uticajem genetske kontrole. Takođe, su identifikovan polimorfizam gena za transcobalamin codon 259 koje posredno utiču na tok trudnoće (Zetterberg 2002). Pronađene su i pozitivne asocijacije učestalih spontanih pobačaja i polimorfizama gena važnih u biotransformaciji molekula, metaboličkim putevima kao i u biosintezi

molekula (Sata F 2003 Hill JA 1990, Zetterberg H 2002). Budući da je inflamacija jedan od etioloških faktora za spontani prevremeni porođaj nameće se zaključak da je i sam prevremeni porođaj genetski determinisan (Dolan SM 2010, Yang X 2017). U studiji na više od 40 000 žena izvedene su analize genoma sa ciljem da se utvrde hromozomski lokusi odgovorni za prevremeni porođaj. Zatim su ispitivane DNK varijante koje bi predisponirale prevremenom porođaju. Celokupno sekvencioniranje egzoma identifikovalo je retke mutacije gena koji kodiraju proteine uključene u negativnoj regulaciji prirodnog imunog odgovora (CARD6, CARD8, NLRP10, NLRP12, NOD2, TLR10, FUT2, DEFB1, MBL2). Neke od mutacija kod prevremeno rođenih neonatusa su prisutne samo u slučajevima prevremenog prsnuća plodovih ovojaaka (CARD6, DEFB1, FUT2, MBL2, NLRP10, NOD2). Ova istraživanja ukazuju da je prevremeni porođaj pod poligeniskim uticajem u koji su uključene retke mutacije i oštećenja gena nativnog imunskog odgovora (Strauss JF 3rd 2018, Modi BP 2017). Genski poliformizmi FNDC5 i rs726344 i majčinih i fetalnih gena za miokin irisin, koji je u bliskoj relaciji sa fibronektinom II, oko 2 puta povećavaju rizik za prevremeni porođaj (Salem H 2018). Na osnovu metaanaliza utvrđeno je kod majki oko 189 polimorfizama i 84 gena koji se mogu dovesti u vezu sa prevremenim porođajem od čega se veliki broj odnosi na polimorfizme gena antagonist receptora za IL-1, b-2-adrenergički receptor, interferon-c i drugi factor koagulacije (FII). Takođe je, na DNK novorođenčadi identifikovano 14 polimorfizama na 8 gena koji su odgovorni za prevremeni porođaj kao i isti polimorfizam za FII što povećava vjerovatnoću za prevremeni porođaj 1.8 puta (Yang X 2017). Za sada je nedovoljno podataka koji bi paternalne gene doveli u vezu sa prevremenim porođajem (Dolan SM 2010) .

Nepovoljan tok trudnoće je povezan i sa polimorfizmom gena za progesteronski receptor. Naime, delovanjem progesterona na receptore za progesteron koji se nalaze na limfocitima stvara se PIBF (od engl. Progesterone induced blocking factor), preko koga progesteron djeluje kao lokalni imunosuprimirajući faktor na nivou fetoplacentarne jedinice, čime se smanjuje ćelijski imunski odgovor i citotoksičnost NK ćelija periferne krvi prema embrionalnim fibroblastima. Polimorfizam gena za progesteronski receptor smanjuje njihovu reaktivost na progesterom a time i imunosuprimirajući efekat progesterona (Schweikert A 2004).

1.1.5. Epigenetski faktori

Spontani preveremni porođaj je kompleksan fenotip sa mnogobrojnim rizičnim faktorima. Brojne studije podržavaju hipotezu da epigenetske modifikacije, kao što je metilacija dezoksiribonukleinske kiseline (DNK), mogu indukovati rizične faktore za prevremeni porođaj ili promene koje će se odraziti u adultnom dobu (Menon R, 2012).

Pol deteta može uticati na različitu ekspresiju gena. Ekspresija gena na nivou placente kod fetusa muškog pola povećava rizik za prevremeni porođaj. Istraživanja su pokazala da kod žena sa muškim fetusom, postoji povećana osetljivost trofoblasta na proinflamatorne citokine i time se objašnjava rani prevremeni odgovor ćelija trofoblasta na proinflamatorne stimulse (Challis J 2013).

1.1.6. Infekcija genitalnog trakta žene kao uzrok prevremenog porođaja

Intra-amnionska infekcija je ustanovljena kao uzrok prevremenog porođaja (PP). Razliciti podaci iz literature ukazuju na mogućnost da je 10% do 40% prevremenih porođaja uzrokovano infektivnim agensima (Lettieri 1993, Goldenberg 2000). Infektivni agensi koji su odgovorni za PP mogu dati klinički manifestne infekcije kao što su vaginoze, cervicitis ili horioamnionitis. Infekcija je najčešće uzrok ranih prevremenih porođaja. Putevi nastanka infekcije mogu biti dvojni. Ascendentni put širenja infekcije iz vagine i cerviksa, kroz placentu do falopijevih tuba je jedan od puteva. Drugi način unosa infektivnih agenasa je preko zida materice tokom izvođenja amniocenteze a infekcija se manifestuje kao funisitis ili horioamnionitis. U daljem razvoju infekcije, produkuju se inflamatorni medijatori koji povećavaju ekspresiju i aktivnost enzima za sintezu prostaglandina (prostaglandin sintetaza PGH-2 ili PTGS-2) i smanjuju oslobađanje enzima za metabolisanje prostaglandina, u najvećoj meri 15 hidroksi prostaglandin dehidrogenaze (PGDH). Delujući istovremeno ovi mehanizmi doprinose izrazitom povećanju prostaglandina (PG) koji dovode do slabljenja fetalnih membrana, do povećane ekspresije matriks metaloproteinaze, razmekšanja cerviksa i uterušnih kontrakcija nakon čega sledi porođaj.

Kao glavni medijatori za pokretanje PP smatraju se prostaglandini. Kaskadna aktivacija COX2 i povećana sinteza prostaglandina je povezana sa citokinskim odgovorom na novonastali ili hronični egzacerbirajući infektivni proces. Većina autora se slaže sa zapažanjem da bakterijaska vaginoza (BV) predstavlja najznačajniji ili bar jedan od najznačajnijih uzroka PP. Uspešno lečenje BV snižava rizik za PP ali ne dostiže nivo zdravih trudnica koje nikada nisu imale BV. Ovi podaci ukazuju da aktivna infekcija pokreće kaskadu zapaljenjskog procesa koji dovodi do PP, ali i na činjenicu da kasno započeta terapija, u momentu kada je kaskadna reakcija ireverzibilna, ne može sprečiti prevremeni porođaj (Andrews WW 2000).

Zapažanja da infektivni agensi mogu aktivirati mehanizme PP su potvrđena i na animalnim modelima. Unošenje bakterija u amnionsku tečnost eksperimentalne životinje veoma brzo dovodi do PP. Citokinska mreža amnionske tečnosti sisara je skoro identična citokinskoj mreži amnionske tečnosti trudnica koje su se porodile pre termina. Intramuskularna aplikacija LPS-a gravidnim eksperimentalnim životinjama dovodi do PP u intervalu od 24 h. U ovom slučaju je dokazana značajna produkcija prostaglandina od strane decidualnih ćelija. Istraživanja su potvrdila da je pojačana sinteza i sekrecija decidualnih prostaglandina posredovana povećanom aktivnošću IL-1 i IL-6 kao i TNF-a. Studije sprovedene na plodovim ovojcima izolovanim posle PP su pokazale da je u skoro svim slučajevima postojalo zapaljenje horioamniona. Histopatološki pregled ovojaka posle PP je takođe u velikom broju slučajeva potvrdio postojanje horioamnionitisa. Koncentracija proinflammatoryh i antinflammatoryh citokina, kao i prostaglandina je znatno veća u plodovim ovojcima i plodovoj vodi posle PP nego posle terminskog porođaja (Romero 2016). Kaskadna aktivacija proinflammatoryh citokina započinje fazom inicijacije nakon čega sledi faza imunomodulacije.

U fazi inicijacije, pod uticajem LPS bakterija, aktiviraju se najpre IL-1 beta i TNF-alfa. IL-1beta i TNF-alfa su dva citokina koja se najčešće mogu dokazati u povećanim koncentracijama u plodovoj vodi prevremeno porođenih žena. U isto vreme se povećava i količina receptora za IL-1 (IL-1R) u plodovoj vodi. Povećane koncentracije IL-1R su nađene i u serumu ploda kod majki sa horioamnionitisom. Dok IL-1beta snažno stimuliše sintezu i sekreciju PGE2 u plodovim ovojcima, posteljici i

decidui, solubilni IL-1R inhibiše sekreciju prostaglandina, najverovatnije mehanizmom neutralizacije IL-1. Nivo IL-1beta u plodovoj vodi je u korelaciji sa nivoom prostaglandina i pozitivnom bakterijskom kulturom plodove vode. Koncentracija TNF-alfa je, takodje, povecana u amnionskoj tecnosti trudnica sa PP i pozitivnom bakterijskom kulturom plodove vode. Povecana koncentracija solubilnih receptora za TNF-a je dokazana u serumu trudnica, plodovoj vodi i serumu ploda u svim slucajevima PPRM i pozitivne bakterijske kulture plodove vode. Prisustvo solubilnih TNF-aR u plodovoj vodi i serumu ploda u drugom trimestru nisu fizioloska pojava i najcesce je ova pojava udruzena sa BV, horioamnionitisom i PPRM. U trudnoći bez komplikacija sekretuju se samo bazalne vrednosti TNF-alfa, koji ima ulogu u fizioloskim, apoptotickim procesima nidacije, placentacije, trofoblastne invazije i cervikalne dilatacije. Aktivacija istih inflamatornih citokina ukazuje na činjenicu da su mehanizmi pobačaja i PP usko povezani sa zapaljenjskom kaskadom, koju iniciraju mikroorganizmi. TNF-alfa i IL-1 se u ovom mehanizmu pojavljuju kao glavni medijatori sinteze i sekrecije prostaglandina, kao neposrednih faktora kontrole cervikalne dilatacije i materičnih kontrakcija (Suryanegara K 2017).

U fazi imunomodulacije pod uticajem IL-1beta i TNF-alfa, u uslovima bakterijske vaginoze (BV) i horioamnionitisa, raste aktivnost IL-6, IL-8 i makrofagnog inflamatornog proteina (MIP). IL-8, MIP i IL-6, kao odgovor na infekciju, sintetisu i sekretuju ćelije decidue i horiona. U sekreciji IL-6 ucestvuju imunske ali i neimunske ćelije decidualno-trofoblastnog kompartmana. Povišena koncentracija IL-6 u serumu trudnice, amnionskoj tecnosti i serumu fetusa je bolji indikator horioamnionitisa od klasicnih parametara kao sto su rezultati bakterijske kulture, koncentracija glukoze u plodovoj vodi, temperatura i broj leukocita trudnice. Decidualno tkivo veoma rano reaguje na prisustvo LPS bakterija sintezom i sekrecijom velikih kolicina IL-6. IL-8 je poznat kao faktor hemoatrakcije i aktivacije neutrofilnih granulocita. U plodovoj vodi prevremeno porođenih žena je koncentracija IL-8 je značajno povecana i koreliše sa intenzitetom BV i horioamnionitisa (Romero 2016). Povišena koncentracija IL-8 u plodovoj vodi je najsenzitivniji parametar prisustva horioamnionitisa i pretećeg prevremenog porodjaja (Suryanegara K 2017).

Progesteron snažno inhibise sekreciju IL-8, MIP i IL-6, kao i proinflammatoryh citokina, dok proinflammatory citokini TNF-a i IL-1b, stimulisu sintezu i sekreciju imunomodulatoryh citokina i hemoatraktanata. Stimulacija sekrecije IL-8, IL-6 i MIP od strane TNF-a i IL-1b je dozno zavisna (Dudley).

Trofoblastna sekrecija IL-8 je konstantna, bez obzira na starost trudnoće. Porodajni mehanizmi takođe ne utiču na nivo trofoblastne sekrecije IL-8, ali u prisustvu horioamnionitisa trofoblast sekretuje višestruko veće vrednosti ovog citokina. U serumu fetusa i trudnice, koncentracija IL-8 je takođe povišena u uslovima BV i horioamnionitisa. Kasnijim istraživanjima se ustanovilo da se koncentracija ovog citokina u plodovoj vodi povećava i u toku terminskog porođaja, sto potvrđuje njegovu fiziološku ulogu u mehanizmima porođaja. Infekcija amnionske tečnosti indukuje produkciju istih proinflammatoryh citokina koji deluju i u terminskom porođaju, uključujući factor nekroze tumora alfa (TNF alfa), IL-8, IL-6, IL-1beta i prostaglandin E2. Razmatrajuci ove podatke moze se reci da su mehanizmi aktivacije citokinske mreze u preterminskom i terminskom porodjaju skoro identicni, tako da sustinska razlika izmedju terminskog i preterminskog porodjaja nije toliko sadrzana u kvalitetu citokinske mreze, vec u vremenu njenog aktiviranja (Lencki 1994).

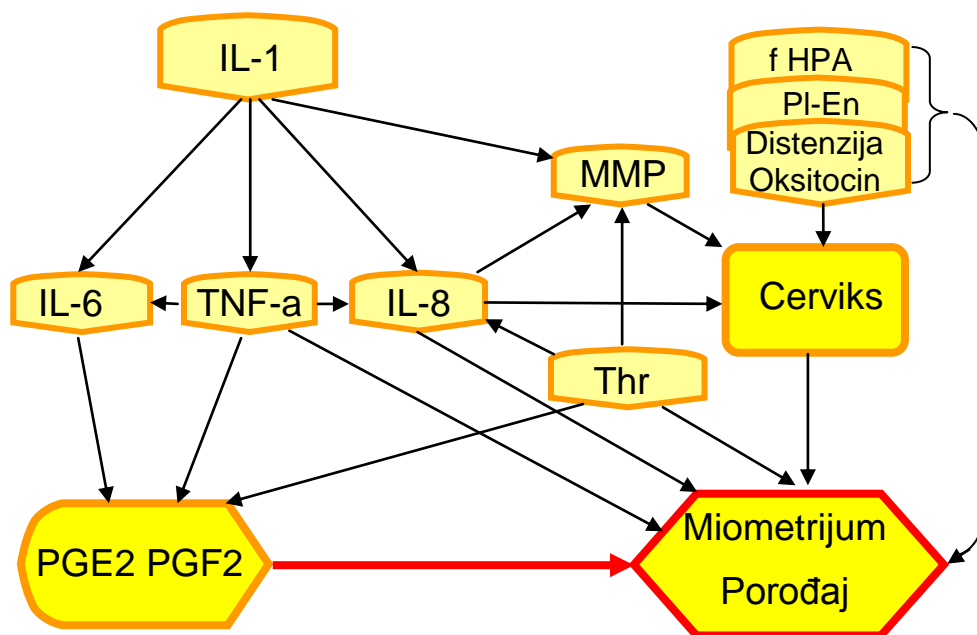
Terminski porodaj

Povećana uterusna kontraktilnost u porođaju u terminu rezultat je aktivacije, a zatim stimulacije miometrijuma. Aktivacija miometrijuma kod porođaja u terminu može biti provocirana mehaničkim rastezanjem uterusa, delovanjem trombina i endokrinim putem kao rezultat povećane aktivnosti fetalne hipotalamo-pituitarne-adrenalne osovine (HPA). Fetalna hipofiza sa napredovanjem trudnoće povećava sekreciju adrenokortikotropnog hormona koji dalje stimiliše lučenje glukokortikoida. Pod uticajem glukokortikoida inhibira se sinteza progesterone a povećava se sinteza estrogena i prostaglandimna.

Kortikosteroidi povećavaju nivo PGE2 delujući na povećanje sinteze prostaglandin H2 sintetaze (PGHS-2) i inhibicijom njihove razgradnje održavanjem niskog nivoa 15-OH prostaglandin dehidrogenaze (PGDH). Ovi procesi se mogu odvijati i zavisno i nezavisno od estrogena. Na sličan način proinflammatory citokini

dovode do porasta PGHS-2 i smanjenja PGDH koji na nekoliko načina mogu pokrenuti porođaj u terminu ili prevremeni porođaj . Visoka koncentracija PGE2 neophodnog za odvijanje terminskog porođaja postiže se kaskadnom aktivacijom proinflammatoryh citokina (IL-1beta, TNF-alfa, IL-6, IL-8, MIP).

Mehanizmi aktivacije citokinske mreže u pretermijskom i terminskom porođaju su skoro identični, tako da sustinska razlika između terminskog i pretermijskog porođaja nije toliko sadržana u kvalitetu citokinske mreže, već u vremenu njenog aktiviranja.



Shema 1. Shematski prikaz aktivacije miometrija u normalnom terminskom porođaju
 IL-1:interleukin 1; IL-6 :interleukin 6; IL-8: interleukin 8; Thr: thrombin; PG: prostaglandin; MMP: metaloproteinaze; fHPA: fetalna hipofizno adrenalna osovina; PI-En: Placentarni endokini uticaj; (Shemu priredio autor teksta: Lj. Nikolić)

Pored proinflammatoryh citokina u mehanizam terminskog porođaja je uključen i oksitocin, hormon hipofize, koji utiče na intenzitet i učestalost kontrakcija glatke musculature uterusa. Mehanizmom pozitivne povratke sprege signali iz uterusa u porođaju dovode do povećane sinteze oksitocita i receptora za oksitocin (Helmer 2002) (Shema 1.).

U svim ovim procesima se povećava koncentracija PGE2 i ekspresija enzima matriks metaloproteinaze (MMP) koja dovodi do slabljenja membrana, razmekšanja cerviksa, istovremeno i do uterušnih kontrakcija nakon čega se kao krajnji događaj odvija porođaj (Gibb 2002, Gyomory 2000). Jedan od direktnih jakih stimulatora miometrijuma je trombin. Trombin povećava frekvenciju, intenzitet i dužinu kontrakcija miometrijuma u dozno zavisnom režimu (Elovitz MA 2000). Pored toga, posreduje u migraciji i adheziji leukocita na aktivirani endotel (Borissoff 2011). Trombin indukuje proizvodnju pro-inflamatornih medijatora, uzrokujući promene u transkripciji gena za interleukine IL-1 β , IL-6 i TNF- α dok u endotelu povećava ekspresiju IL-6 i IL-8 (Tokunou 2001, Lockwood 2005).

1.1.7. Prevremeni porođaj nepoznate etiologije

Brojni su etiološki i rizični faktori za nastanak prevremenog porođaja. Mnoga istraživanja su se bavila pojedinačnim riziko faktorima kao i njihovim međusobnim uticajima, međutim, patofiziološki mehanizmi prevremenog porođaja su i dalje nejasni i za dve trećine prevrenih porođaja etiologija nastanka je nepoznata (Muglia 2010, Ferrero 2016, Geogiou 2015).

Infekcija i inflamacija fetalnih membrana i povećani nivoi citokina usled horioamnionitisa se smatraju najzastupljenijim etiološkim faktorom prevremenog porođaja, međutim, histološki nalaz horioamnionitisa može biti prisutan bez jasno dokazane infekcije i bez jasnog patofiziološkog mehanizma kako je došlo do prevremenog porođaja (Veerapen 2014). Isto tako, koncentracije IL-6, IL1-beta i drugih citokina su kod nekih slučajeva pretermijskih porođaja povećane bez prisutnog horioamnionitisa. Pri tome se, u tim slučajevima, nisu mogli dokazati mikroorganizmi ni kultivacijom ni molekularnim mikrobiološkim tehnikama iako je u amnionskoj tečnosti nivo citokina bio visok (Dulay AT 2015). Ovi nalazi ukazuju da postoje dve subpopulacije spontanog prevremenog porođaja: one sa prisutnim horioamnionitisom i one sa sterilnom intramnijskom inflamacijom odnosno nepoznatom etiologijom (Chen GY 2010, Chaemsathong P 2015, Romero J Perinat 2015, Plazyo O 2016).

Vrsta citokina se ne razlikuje kod prevremenog i kod normalnog porođaja što ukazuje da je mehanizam prevremenog porođaja isti kao i mehanizam normalnog porođaja (Chmaj-Wierzchowska K 2016).

Činjenica da su isti citokini uključeni i u prevremeni i u terminski porođaj navelo je istraživače na zaključak da su se citokini stvorili na drugom, udaljenom mestu u organizmu trudnice i da su cirkulacijom dospeli u intramnijsku tečnost. Pretpostavlja se da u slučajevima PP sa sterilnim amnijskom infekcijom citokini stvaraju na mestu inflamacije u udaljenom delu organizma, prelaze placentarnu barijeru i kada dostignu kritičnu koncentraciju stimulišu uterusne kontrakcije (Gomez-Lopez N 2017, Romero 2015). To može ukazati na postojanje inflamatornog procesa na udaljenom mestu koji je doveo do porasta citokina i tako se vraćamo na 1891 kada je Miller publikovao teoriju fokalne infekcije (Miller WD 1891).

Prema Millerovoj teoriji mikroorganizmi i njihovi i produkti iz usne duplje, iz fokusa prelaze u bliže ili udaljene delove dela. Infekcija se smatra glavnim uzrokom prevremenog porođaja i odgovorna je za 30 do 50% svih slučajeva prevremenog porođaja a periodontitis predstavlja pravu infekciju usne duplje (Saini R 2010). Endotoksini bakterija usne duplje stimulišu produkciju citokina i prostaglandina (IL-1 β , IL-6 i TNF- α) i kada ovi inflamatorni medijatori dostižu kritičnu koncentraciju stimulišu porođaj. Pored toga, proinflamatorni medijatori mogu proći placentarnu barijeru i dovesti do intoksikacije fetusa što za posledicu ima prevremeni porođaj i rađanje deteta male porođajne mase (Saini R 2010). Istraživanja ukazuju da postojanje inflamacija u organizmu utiče na produkciju oksitocinskih receptora i citokina u ćelijama glatke muskulature uterusa (Gibbs RS 1992, Terzidou V 2011).

Činjenica je da porast intrauterinog nivoa prostaglandina stimuliše kontraktilnost miometrijuma i u terminskom i u prevremenom porođaju. Isto tako mnogi inflamatorni procesi porastom bioloških markera inflamacije, tj citokina kao konačni ishod daju povećanje koncentracije PGE2 i PGF2-alfa koji dalje pokreću mehanizam porođaja (Hitti J 2001, Jarjoura K 2005).

Na moguću povezanost periodontitisa i nepovoljnog ishoda trudnoće je još 1931.godine ukazao Galloway (Radnai M 2004). Mikrobiološke, imunološke studije i studije na animalnom modelu ukazuju da patološki procesi na parodontijumu mogu

uticati fetoplacentarnu jedinicu i indukovati prevremeni porođaj (Pizzo G 2005, Romero AJ Ob&Gyn 2015, Stadelmann 2015).

1.2. Inflamatorna oboljenja parodonticijuma

Oboljenja parodonticijuma su infektivne prirode i nastaju kao rezultat inflamacije specijalizovanih tkiva koja okružuju i čine potporu zubima. Oboljenja parodonticijuma su multifaktorijalna ali uvek započinu njegovom mikrobnom kolinizacijom. U sadejstvu sa dentalnog biofilma i imunskog odgovora nastaju inflamatorne bolesti potpornog aparata zuba (Oliveira Costa F 2013). Na razvoj oboljenja parodonticijuma utiču i brojni lokalni i opšti (sistemski) pomažući faktori. Dokazano je da su tokom trudnoće hormoni placente značajan činilac koji doprinosi razvoju kliničke slike inflamatornih bolesti potpornog aparata zuba (Wu M 2016). Osnovne kategorije inflamatornih bolesti potpornog aparata zuba su: a) gingivitis – nedestruktivna reverzibilna inflamacija gingiva i b) periodontitis – destruktivno inflamatorno oboljenje potpornih tkiva zuba (Armitage GC 1996, Armitage GC. 2001).

1.2.1. Gingivitis

Gingivitis je reverzibilno inflamatorno oboljenje gingive prouzrokovano bakterijama. Dentalni plak je osnovni etiološki factor za razvoj gingivitisa. Klinički znaci gingivitisa su inflamacija, edem, eritem kao i krvarenje iz tkiva gingive. Prema rezultatima istraživanja prevalencije gingivitisa je oko 80% kod dece i adolescenata. Zbog toga se gingivitis smatra najčešćom formom parodontalnih oboljenja. Među trudnim ženama incidenca gingivitisa je čak i veća. Na osnovu kliničkih izveštaja, takozvani, trudnički gingivitis je zastupljen od 35% do 100%. Razlike u prijavljenim učestalostima su odraz kako analizirane populacije tako i odraz korišćenih parametara u proceni stanja desni (Robinson P 2015). Hormonske promene u trudnoći utiču na periodontalna tkiva različitim mehanizmima i menjaju imunski odgovor trudnice, mikrobnii sastav dentalnog biofilma itd (Oliveira Costa F 2013, Wu M 2016). Povećana koncentracija cirkulišućeg progesterona u trudnoći dovodi do dilatacije kapilara

gingive, povećane permeabilnosti kapilara što pored ostalog, dovodi do promene sastava gingivalne tečnosti iz transudata u eksudat. Početak pojačane gingivalne inflamacije je primećen u drugom mesecu gestacije, dostiže pik u osmom mesecu i u saglasnosti je sa povećanim nivoima cirkulišućih hormona. Koncentracija prostaglandina u gingivi i u gingivalnoj tečnosti se, takođe, značajno povećava. U zavisnosti od brojnih faktora gingivitis može da se razvije u periodontitis (Robinson, P 2015, Oliveira Costa F 2013, Wu M 2016).

1.2.2. Periodontitis

Periodontitis (PD) je destruktivno inflamatorno oboljenje potpornih tkiva zuba, a koje nastaje kao rezultat imunskog i inflamatornog odgovora organizma na infekciju mikrobiomom organizovanog u polimikrobni biofilm (Chukkapalli SS 2015). Ovo patološko stanje nastaje kao odgovor na infekciju uglavnom gram-negativnim bakterijama iz dentalnog biofilma. Tok periodontitisa kako u kvalitativnom tako i u kvantitativnom smislu je individualan a otkriva se ciljanim kliničkim pregledom i/ili radiografijom (Bansal T 2014). Patognomoničan znak periodontitisa je formiranje paradontalnog džepa, pri čemu destruktivni inflamatorni process može da utiče i na organizam kao celinu (Straka 2011). U inflamatornom odgovoru na mikrofloru dentalnog plaka lokalno raste nivo protein akutne faze čime se menja struktura mikrookoline (Bansal T 2014). Sinergističkim delovanjem paradontalnih patogena i njihovih endotoksina, pojačava se humoralni imunski odgovor i produkcija markera inflamacije (Chukkapalli SS 2015, Chukkapalli SS 2014). Kao odgovor na infekciju proizvode se proinflamatorni citokini (IL-1 β , IL-6 i TNF- α) i PGE1 i PGE2 (Roth-Isigkeit 2001, Straka 2011). U nastalom inflamatornom procesu pojačava se permeabilnost krvnih sudova, što omogućava difuziju citokina u cirkulaciju koji, na taj način, mogu sistemski uticati na sva tkiva i organe organizma (Huck O 2011). Tokom drugog i trećeg trimestra trudnoće gingivalna/parodontalna inflamacija često je znatno intenzivnija (Robinson, P 2015). Literaturni podaci ukazuju da citokini, proizvedeni u tkivima paradoncijuma, mogu indukovati inflamaciju na nivou fetoplacentarne jedinice i povećati nivo inflamatornih citokina u amnionskoj tečnosti bez prisustva horioamnionitisa (Saini R 2010).

Parodontalna infekcija trudnice predstavlja neprekidni rezervoar medijatora inflamacije i citokina (TNF-alfa, IL-1, IL-6, PGE2) koji svojim dejstvom mogu uticati na ishod trudnoće (Pizzo G 2005, Chaemsaitong P 2015, Xiong X 2007, Govindaraju P 2015).

Intenzitet parodontalne inflamacije i stepen izraženosti oboljenja parodonticijuma može da korelira sa nivoom citokina (Rathnayake N 2013). Pored toga, istraživanja su pokazala da, na stepen izraženosti inflamatornih oboljenja parodonticijuma može da utiče i sekretorni status individue (Tobón-Arroyave SI 2008, Nikolić Lj 1996, Loos BG 2005, Andrukhov O 2011, Dav'e S2008, Rocha 2012).

1.3. Sekretorni status

Sekretorni status predstavlja svojstvo individue da ispolji krvnogrupne supstance u telesnim tečnostima. Sekretorni status je retgulisan genom za fukoziltransferazu2 (FUT2) i oko 80% populacije pripada sekretorima. Osobe kod kojih su krvnogrupni antigeni prisutni na površini ćelija ali i u salivi i drugim telesnim tečnostima nazivaju se sekretori. Antigeni krvnih grupa kod non-sekretora su prisutni na površinama ćelija ali ne i u telesnim tečnostima. Po strukturi krvnogrupne supstance ABO sistema (A,B,H) i Lewis sistema (Lewis b, Lewis y) su oligosaharidi. Na površini ćelija su oligosaharidi krvnih grupa u sklopu lipida ćelijske membrane tako da su antigeni krvnih grupa predstavljeni glikolipidima. Krvnogrupni antigeni u telesnim tečnostima su glikoproteini jer su krvnogrupne supstance vezane za proteine telesnih tečnosti. Krvnogrupne supstance se u salivi uglavnom naleze u mucinima. Krvnogrupni antigeni i drugi oligosaharidi u salivi deluju kao receptori za adheziju bakterija i tim svojim svojstvom regulišu sastav oralnih bakterija i doprinose formiranju oralnog mikrobioma. Vezivanje patogena za ove receptore aktivira različite signalne puteve čime se modulira imuni odgovor. Iz tih razloga fenotipovi sekretor ili non-sekretor uslovljavaju neke metaboličke i infektivne bolesti. Nedavna istraživanja ukazuju na mogućnost da non-sekretori imaju veću sklonost ka infekcijama patogenim mikroorganizmima (Nurjadi D, 2012). U skladu sa tim izvesni radovi ukazuju da su

non-sekretori u većem riziku za razvoj inflamatornih oboljenja, prekancerskih i kancerskih lezija (Clyman RI 2011, Morrow 2011, Campi C 2012).

Kod sekretora salivarni krvnogrupni antigeni aglutinišu oralne patogene i doprinose mnogobrojnim funkcijama salive kao što je isoiranje, odstranjivanje bakterija i antimikrobno dejstvo (Lee YH 2009, Gunput ST 2015, Gunput 2016).

Kod non-sekretora nema solubilnih krvnogrupnih antigena pa se oralne patogene bakterije vežu za krvnogrupne supstance na ćelijskoj površini endotela gingive i na taj način formiraju polimikrobni gingivalni ili subgingivalni biofilm. U daljem toku patološkog procesa razvija se gingivalna infekcija a kasnije periodontitis koji se karakteriše porastom nivoa TNF-alfa, IL-1beta, IL-6 i PGE2 (Nasir W 2012, Chukkapalli SS 2015, Chukkapalli 2014).

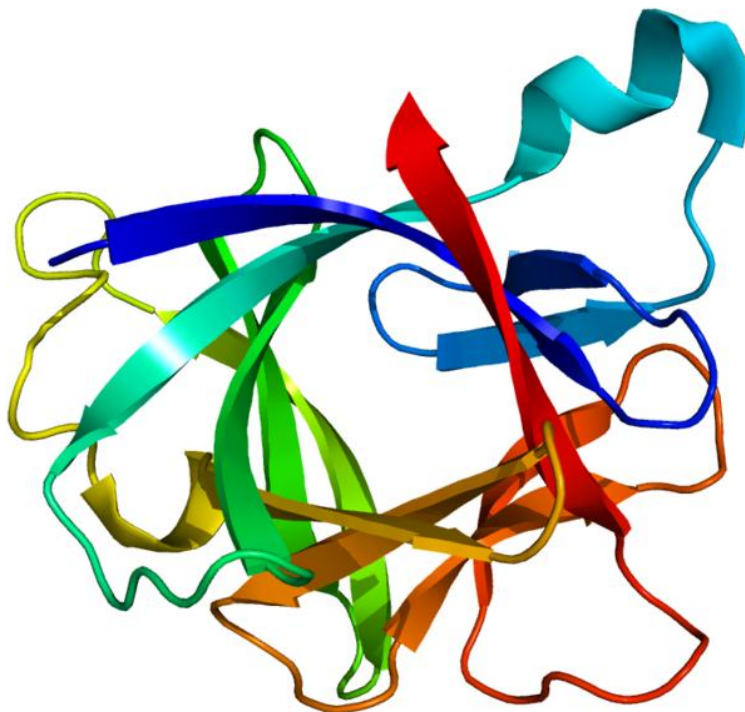
1.4. Medijatori inflamacije

1.4.1. Interleukin 1 beta (IL-1b)

Interleukin 1–beta (IL-1b) je moćan proinflamatorni citokin. Produkuju ga ćelije nespecifične imunosti kao što su monociti i makrofagi. IL1-b je ključalan u odgovoru domaćina na povredu ili infekciju. IL1-beta je od svih 11 članova familije IL-1 najviše proučavan. Produkuje se kao neaktivni precursor od 31kDa koji se naziva pro-IL1b. Na pro-IL-1b deluje pro-inflamatorna proteaza kaspaza-1, razlaže ga i tako nastaje aktivna forma molekula IL-1b (Dinarello CA. 1996). Postoje dva mehanizma kojima se objašnjava produkcija IL-1b. Jedan je na klasičan način u koje je uključen endoplazmatični retikulum IL-1b i Goldži kompleks. Drugi mehanizam je posredstvom inflamazoma (Plazyo O 2016).

Da bi se aktivirala kaspaza spaja se sa multiproteinskim kompleksom koji se naziva inflazoma. Nakon procesa koji je zavistan od delovanja kaspaze-1 na pro-IL-1b, zreli IL-1b se brzo sekretuje iz ćelija. Međutim, kako se IL-1beta sekretuje nije sasvim jasno (Lopez-Castejon G, 2011). S obzirom da IL-1beta dovodi do intenzivnog oštećenja tkiva tokom akutnih i hroničnih oboljenja, smatra se da povećane koncentracije u plazmi mogu dovesti do sistemskih poremećaja pa i do prevremenog porođaja (Dinarello CA 2010).

Povećenje nivoa IL-1beta je nađeno u raznim infekcijama, u reakciji odbacivanja trasplantata, u ishemijskim oboljenjima kao I u reakciji kalema protiv domaćina (Shahbakhti H 2004).



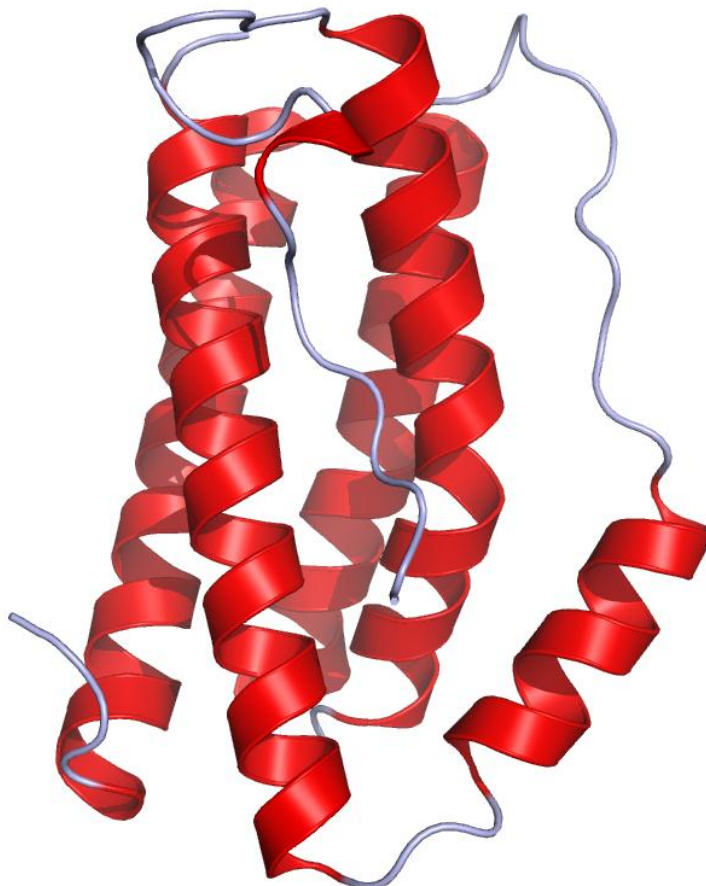
Slika 2. Struktura IL1-beta (dostupno na: https://en.wikipedia.org/wiki/Interleukin_1_beta)

Dovoljne su minimalne količine IL-1beta da bi se indukovalo oslobađanje adrenokortikotropnih hormona, inflamaciju I imuni odgovor (Limei Li, 2008)

1.4.2. Interleukin-6

Interleukin-6 (IL-6) je mali biološki aktivan molekul molekulske težine oko 20 kDa koji pripada familiji citokina. Humani IL-6 se sastoji od 212 amino kiselina, uključujući i 28 signalnih peptida. Kodiran je genom na hromozomu 7 (7p21). Zbog svojih mnogobrojnih funkcija IL-6 je bio poznat pod mnogobrojnim imenima kao što su: stimulirajući factor B-limfocita 2 (BSF-2), stimulirajući factor hepatocita (HSF),

factor rasta hibridoma (HGF), interferon (IFN)- β 2. Tek je 1986. godine nakon kloniranja molekula DNK za BSF-2 ustanovljen jedinstven naziv IL-6 (Kishimoto T.1989). Na slici 3. prikazana je kristalna struktura IL-6.



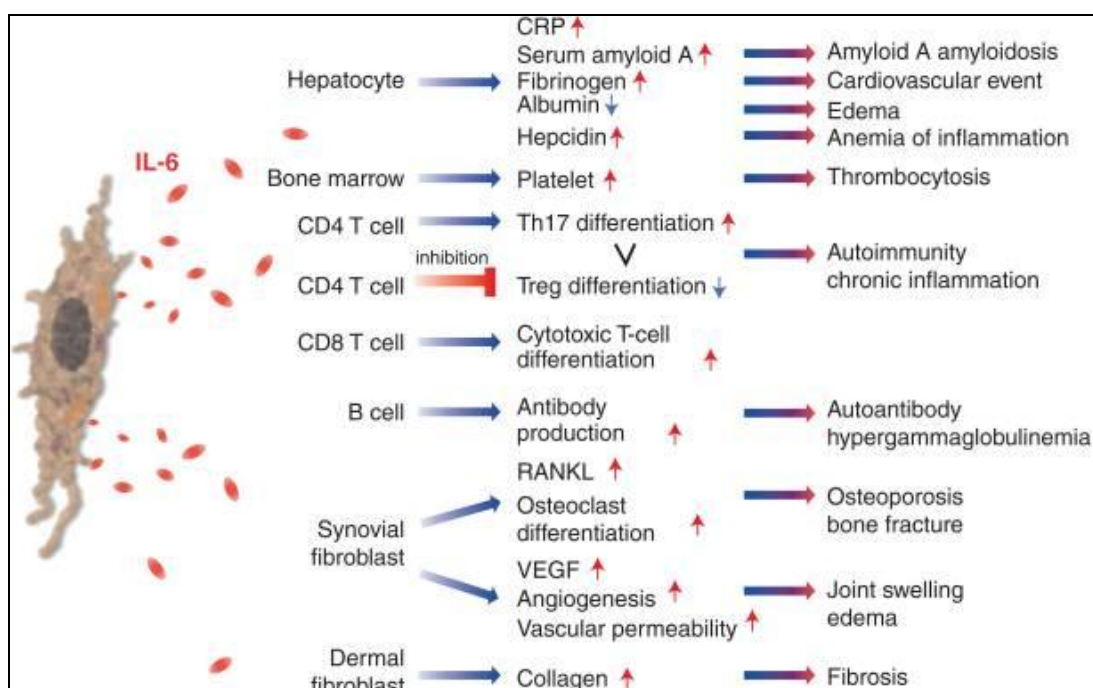
Slika 3. Kristalna struktura IL-6, dostupno na;
https://sh.wikipedia.org/wiki/Interleukin_6#/media/File:IL6_Crystal_Structure.rsh.png

Produkuje se u mnogim tkivima organizma. Produkuju ga aktivirani leukociti, adipociti kao i endotelijalne ćelije. IL-6 je proinflamatorni citokin koji sekretuju i T limfociti i makrofagi čime se stimuliše imuni odgovor usled traume, opekotina i drugih oštećenja tkiva koja dovode do inflamacije. IL-6 je važan medijator u nastajanju groznice i odgovora akutne faze. U mišićima i masnom tkivu IL-6 stimuliše energetske procese koji dovode do porasta telesne temperature. IL-6 sekretovan od strane makrofaga predstavlja odgovor na patogene moleculske komplekse (PMPs) vezane za Toll-like receptore na aktiviranim makrofazima.

Zbog svoje aktivnosti učestvuje u mnogim biološkim procesima u organizmu. IL-6 igra važnu ulogu u stimulaciji imunskog odgovora na infekciju ili traumu indukujući produkciju proteina akutne faze kao što su C-reaktivni protein (CRP), fibrinogen, haptoglobin i alfa1-antihimotripsin. S druge strane smanjuje produkciju fibronektina, albumina i transferina (Shema 2). (Tanaka 2014, Heinrich 1990, Giannobile WV 2000, Pirhonen J 1999, Park DR 2003). Pored proinflammatoryh uticaja IL-6 ima i anti inflamatorno delovanje (Hernández-Rodríguez J 2004). Mesendžer ribonukleinska kiselina (RNK) za IL-6 je nađena u pljuvačnim žlezdama usana zdravih ljudi a njena ekspresija je bila regulisana u skladu sa fokalnom infiltracijom limfoidnih ćelija. Epitelijalne ćelije pljuvačnih žlezda su aktivni učesnici u autoimunim procesima kao na primer u Sjögrenovom sindromu gde sekretuju IL-6 i dovode do povećanja njegove koncentracije u salivi (Southerland JH 2006, Tzouvelekis A 2005). Istraživanja su pokazala da je nivo IL-6 povezan sa mnogim procesima kao što su poremećaji spavanja, psihološki faktori i stress. Eksperimenti na životinjama su pokazali da je oslobađanje IL-6 iz pljuvačnih zlezda pod uticajem α - and β -adrenergičke stimulacije (Tanda N 1998). Nivo salivarnog IL-6 je povećan i u bolestima parodontijuma (Miller CS 2006).

IL-6 spada medju najbolje proučenim citokinima u prevremenom porođaju. Od svih citokina koji učestvuju u PP IL-6 je sigurno jedan od najsenzitivnijih citokina kada je u pitanju horioamnionitis. Povišena koncentracija IL-6 u serumu trudnice, amnionskoj tecnosti i serumu fetusa je bolji indikator horioamnionitisa od klasicnih parametara kao sto su rezultati bakterijske kulture, koncentracija glukoze u plodovoj vodi, temperatura i broj leukocita trudnice. Čak i u *in vitro* uslovima, decidualno tkivo veoma rano reaguje na prisustvo lipopolisaharida (LPS) bakterija sintezom i sekrecijom velikih količina IL-6. i Koncentracija IL-6 se u serumu trudnice znacajno povecava najmanje 24 h pre prevremenog pucanja plodovih ovojnica koje je prouzrokovano horioamnionitisom (Murtha 2007).

IL-6 se oslobađa pod delovanjem IL-1b i TNF. Receptori za IL-6 su detektovani na površinama mnogih ćelija kao što su T-limfociti, aktivirani normalni B limfociti ali i na modifikovanim B limfocitima pod dejstvom Epštajn-Barovog virusa (Epstein-Barr virus-EBV). Istraživanja su pokazala da IL-6 deluje kao “miokin” citokin koji produkuje mišići i povećava se kao odgovor na mišićnu kontrakciju (Tanaka 2014). IL-6 prolazi hematoencefalnu barijeru tako da visoki nivoi IL-6 u serumu majke mogu uticati na razvoj mozga fetusa (Smith SE 2007).



Shema 2. Prikaz funkcija IL-6 (Preuzeto iz: Tanaka 2014, Heinrich 1990)

IL-6 ostvaruje svoj uticaj preko receptora na ćelijskoj površini u koje spadaju i transmembranski protein gp130. IL-6 indukuje stvaranje kompleksa između gp130 i receptora za IL-6 i na taj način se aktivira IL-6. Ovi kompleksi zajedno sa intracelularnim delom gp130 započinju kaskadu transdukcije preko Janus kinaze (JAKs) i prenosnika signala i aktivatora transkripcije (STATs). Delovanje IL-6 preko signalnog kompleksa gp130 je u najvećoj meri proučavano. Ostali citokini koji deluju preko receptora koji sadrže gp130 kao što su IL-11, leukemija inhibicioni faktor (LIF) ili onkostatin M (OSM) se obično nazivaju interleukinu-6 slični citokini ili citokini koji koriste gp130.

1.4.3. Faktor nekroze tumora alfa (TNF-alfa)

Faktor nekroze tumora-alfa (TNF-alfa) je imunski medijator koji reguliše imunski odgovor, modulira ćelijski rast i diferencijaciju i aktivira koagulaciju krvi. Produkuju ga uglavnom makrofagi kao odgovor na povredu ili inflamaciju. Pored makrofaga, novija istraživanja ukazuju da ga produkuju limfoidne ćelije, mastociti, endotelne ćelije, miociti srca, adipozno tkivo, fibroblasti i neuroni

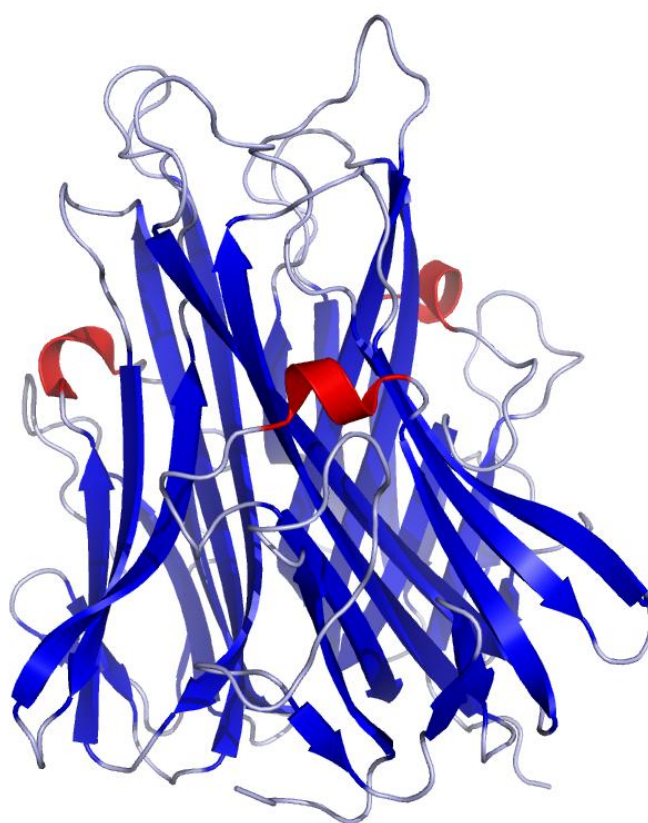
TNF-alfa je izolovan 1975. godine kao agens koji indukuje nekrozu tumora. TNF-alfa u kombinaciji sa interleukinom-6 (IL-6) posreduje u odgovoru akutne faze. Indukuje ekspresiju adhezionih molekula koji regulišu migraciju neutrofilnih leukocita u ranoj fazi inflamatornog odgovora. Nakon delovanja lipopolisaharidima (LPS) i IL-1 njegova transkripcija je veoma rapidna, počinje za par minuta a produkcija proteina za nekoliko časova. Ljudski TNF gen (TNFA) je bio kloniran 1985. On se nalazi na hromozomu 6. Gen za TNF-alfa pripada familiji gena koji se brzo aktiviraju nakon stimulacije LPS-ima i spadaju u kategoriju gena ranog odgovora. Gen za TNF-alfa i drugi geni ranog odgovora imaju brzu transkripciju nakon stimulacije nezavisno od proteinske sinteze. Geni sekundarnog odgovora uključujući i gene za IL-6 i IL-12 imaju sasvim drugačiju regulaciju (Bernstein BE 2005, Kouskouti A 2005). TNF se najpre produkuje kao veliki transmembranski protein tip II, homotrimer, koji se sastoji od 233 amino kiseline. Proteolitičkim delovanjem metaloproteaze TNF-alfa konvertujućeg enzima (TACE ili ADAM17) na ovaj homotrimer oslobađa se solubilni TNF-alfa. Humani sekretovani TNF-alfa ima trouglastu, piramidnu strukturu (Slika 4.) i molekulsku težinu oko 17 kD.

U mozgu ga produkuju mikroglije. Identifikovani su pojedinačni nukleotidni polimorfizmi u promotoru genu za TNF-alfa na poziciji 308 koji su povezani sa povećanom ekspresijom TNF-alfa (Wilson 1997). TNF-alfa je povećan u ishemijskim oboljenjima (Nayak 2012).

TNF-alfa deluje na mnoge organe i njegova dejstva se ostvaruju u sadejstvu sa IL-1 i IL-8. U hipotalamusu TNF-alfa stimuliše hipotalamopituitarno-adrenalnu osovину stimulacijom adrenokortikotropnog rilizing hormona (CRH), suprimira apetit i dovodi do groznice. U jetri TNF-alfa stimuše odgovor akutne faze povećanjem C-reaktivnog

protein (CRP). Indukuje insulinsku rezistenciju fosforilacijom serinskih rezidua insulinskog receptora čime blokira prenos signala. Dugotrajna ekspozicija manjim koncentracijama TN-alfa dovodi do kaheksija kao što se vidi kod obolelih od kancera. Neka istraživanja su pokazala da intenzivno vežbanje smanjuje produkciju TNF-alfa (Windsor 2018 Pedersen 2017).

TNF-alfa igra jednu od bitnih uloga u procesu odbacivanja alografta bilo da se radi o solidnom organu ili o postranfuzionoj reakciji kod primene alogene krvi (Davenport RD 1991).



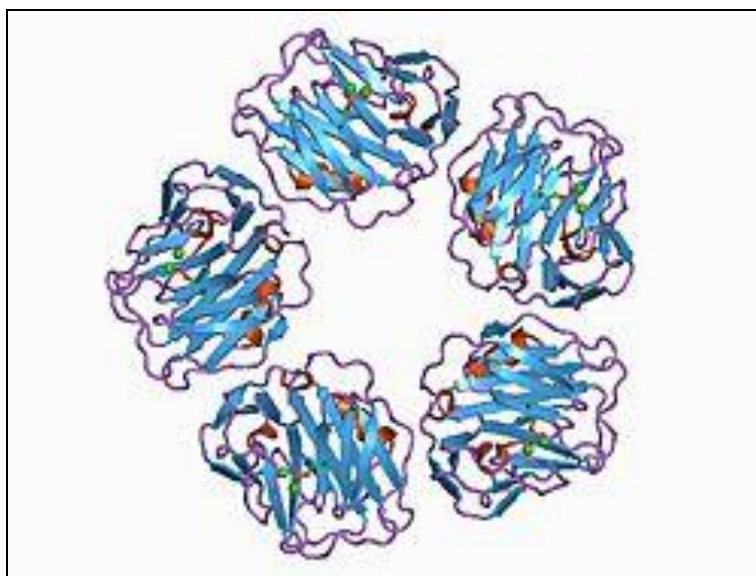
Slika 4. Kristalna struktura TNF-alfa
(dostupno na https://sh.wikipedia.org/wiki/Faktor_nekroze_tumora-alfa)

TNF-alfa ima ključnu ulogu u inicijaciji i oslobađanju drugih proinflamatornih medijatora, u aktivaciji endotelih ćelija, u povećanju ekspresije i aktivnosti intercelularnih adhezionih molekula i u indukciji T i B limfocita koji mrežom svojih aktivnosti dovode do povećanja ekspresije glavnih histokompatibilnog kompleksa

(MHC) kako klase I tako i klase II. Uloga TNF-alfa u aktivaciji MHC doprinosi reakciji odbacivanja alografta. Nivo TNF-alfa se razlikuje od individue do individue ali kod iste osobe pokazuje postojanu koncentraciju što ukazuje na nasleđene, interindividualne genetske razlike. Brojne studije su istraživale povezanost polimorfizma za TNF-alfa i predispoziciju za razvoj oboljenja. Na osnovu tih studija ustanovljeno je da su polimorfizmi za TNF-alfa povezani sa raznim infekcijama, inflamacijama i neoplastičnim oboljenjima.

1.4.4. C-reaktivni protein

C-reaktivni protein (CRP) je protein plazme, pentamer, kružnog oblika koji pripada familiji pentaksina (ili pentraksina) (Slika 5.). Gen za CRP se nalazi na dugom kraku prvog hromozoma (1q23.2). Monomer CRP-a se sastoji od 224 amino kiseline i molekulske mase 25106 Da (Bansal T 2014).



Slika 5. Pentamerna struktura C-reaktivnog protein
(Preuzeto: <https://www.google.rs/search?q=c+reaktivni+protein>)

CRP je nespecifični protein akutne faze i igra važnu ulogu u odbrani od infekcije. Naime, U prisustvu kalcijuma CRP se specifično veže za polisaharide

prisutne na ćelijskoj površini mnogih mikroorganizama. Vezivanjem CRP za mikroorganizme aktivira se complement što predstavlja opsonizaciju infektivnog agensa i pripremu za njegovu fagocitozu. Pored toga, CRP neutrališe proinflamatorni aktivirajući factor trombocita.

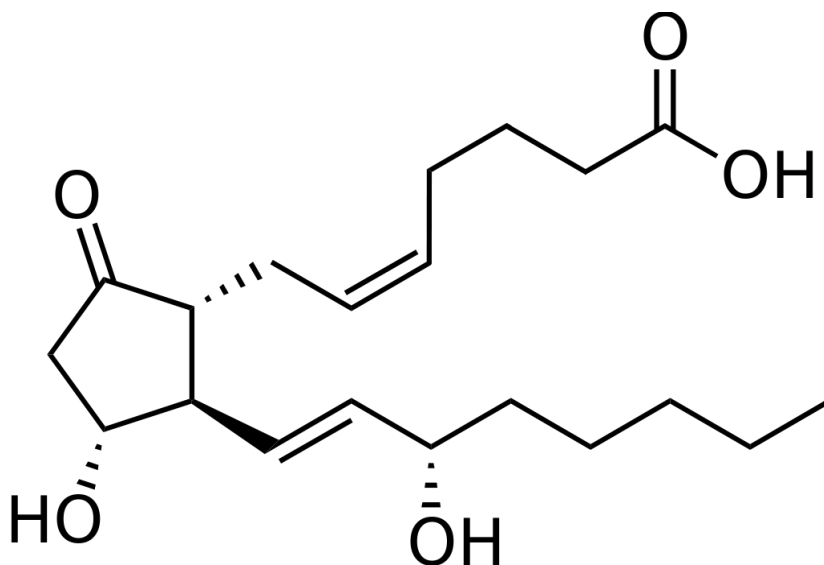
C-reaktivni protein (CRP) je otkriven 1930. godine u toku ispitivanja pacijenata sa infekcijom *Streptococcus-om pneumonia*. Ime je dobio na osnovu toga što je, kao neidentifikovana supstanca za ono vreme, reagovao sa kapsularnim polisaharidima pneumokoka (Capsule Reactive Protein) (Tillett WS 1930). CRP je plazmatski protein koji odražava stepen odgovora akutne faze inflamacije i predstavlja jedan od markera izbora za praćenje odgovora na inflamaciju.

CRP učestvuje u sistemskom odgovoru na inflamaciju. On je prepoznatljivi molekul koji se veže za specifične strukture koje se proizvode tokom ćelijske smrti ili se nalazi na površini različitih patogenih bakterija. Nagli porast sinteze CRP-a unutar par sati od infekcije upućuje na njegovu ulogu u odbrani organizma kao deo prirodnog imunog odgovora.

CRP se proizvodi kao odgovor na različite vrste oštećenja, na traumu, infekciju, hipoksiju i njegova sinteza je regulisana raznim citokinima kao što su IL-6, IL-1 β i TNF- α . CRP-a je povišen kod gojaznih, kod osoba koje puše, kod osoba sa dijabetesom i u oboljenjima parodontijuma. CRP je protein plazme koji se može proizvoditi 100 puta više u periodu od 72 časa od infekcije ili traume. CRP je senzitivni marker za evaluaciju inflamatornog stanja. Nivo CRP-a je u korelaciji sa stepenom periodontalnog oboljenja i opada tokom uspešne konzervativne periodontalne terapije (Podzimek S 2015).

1.4.5. Prostaglandin E2

Prostaglandini (PG) su metabolite arahidonske kiseline . Jedan od mehanizama sinteze PGE je delovanjem prostaglandin sintetaze (PGHS-2) čija se aktivnost povećava 80 puta pod delovanjem citokina. Delovanjem enzima prostaglandin H sintetaze (PGHS) na arahidonsku kiselinu nastaje najpre prostaglandin H2. Drugi mehanizam koji dovodi po povećanja produkcije PG u inflamaciji je delovanjem azot oksida (NO) na ciklooksigenazu-2 (COX-2) koja je takođe zavisna od dejstva citokina.



Slika 6. Struktura prostaglandina E2 (dostupno na: https://en.wikipedia.org/wiki/Prostaglandin_E2)

Prostaglandini se razgrađuju delovanjem 15-OH-PGDH. Na produkciju PG utiču mnogi faktori. Progesteron smanjuje produkciju PG dok estrogeni povećavaju stvaranje PG.

Prostaglandini se sastoje od 10 klasa od kojih su najbitnije D, E, F, G, H i I klasa. Od svih prostaglandina najviše je proučavan prostaglandin E2 (PGE2) (Slika6.).

PGE2 je snažan vazodilatator zbog čega povećava permeabilnost kapilara koja se klinički manifestuje otokom i crvenilom. Pod uticajem PGE2 fibroblasti i druge ćelije povećavaju produkciju MMP-a. Za razliku od prostaglandina I2, PGE2 ne inhibiše agregaciju trombocita.

Prostaglandin E2 je otkriven 1970. godine od strane Bunting-a Gryglewsk-og Moncada i Vane-a a u kliničku upotrebu 1977. godine.

PGE2 je prirodni product mnogih tkiva a u farmakološkom obliku se koristi u indukciji porođaja i završavanju trudnoće, kod postpartalnog krvarenja i održavanju ductusa arterozusa kod novorođenčadi.

Delovanje PGE2 se, kod žene u porođaju, ostvaruje aktivacijom receptora za prostaglandin E2 koji dovode, s jedne strane, do otvaranja i umekšanja grlića a s druge strane do vazodilatacije.

Istraživanja na polju prevremenog porođaja su uvek aktuelna jer za dve trećine prevremenih porođaja se još uvek ne može naći adekvatno biološko objašnjenje a kombinovani uticaj ovih faktora do sada nije istraživan

2. Ciljevi istraživanja

Ispitivanje nivoa medijatora inflamacije u salivi i plazmi kao i ispitivanje stanja sekretorstva u odnosu na krvnogrupne supstance kod prevremeno porođenih žena i kod žena koje su se porodile u terminu imalo je sledeće ciljeve:

- Ispitati i uporediti učestalost periodontitisa kod prevremeno porođenih žena i žena porođenih u terminu
- Ispitati krvnogrupnu pripadnost i sekretorni status kod prevremeno porođenih i žena porođenih u terminu
- Ispitati i uporediti učestalost periodontitisa kod žena sekretora i nonsekretora u grupi prevremeno porođenih i žena porođenih u terminu
- Ispitati i uporediti nivo koncentracija medijatora inflamacije u salivi i plazmi (IL-1, PGE2, IL-6, TNF- α i CRP) između prevremeno porođenih i žena porođenih u terminu
- Ispitati i uporediti nivo koncentracija medijatora inflamacije (IL-1, CRP, IL-6, TNF- α i PGE2) između žena sa periodontitisom i žena bez periodontitisa
- Utvrditi da li postoji razlika u koncentraciji medijatora inflamacije u pljuvački i perifernoj krvi u odnosu na sekretorni status i stanje parodoncijuma kod prevremeno porođenih žena i žena porođenih u terminu
- Ispitati da li postoji korelacija između koncentracija u salivi i plazmi za svaki marker inflamacije pojedinačno kod prevremeno porođenih i žena porođenih u terminu
- Ispitati da li postoji međusobna korelacija između ispitivanih markera inflamacije kod prevremeno porođenih i žena porođenih u terminu
- Ispitati i uporediti perinatalni ishod kod prevremeno porođenih i žena porođenih u terminu

3. Materijal i metode

U studiju je uključeno 56 žena starosti od 17 do 41 godine porođenih prevremeno. Pedeset šest žena porođenih u terminu predstavljalo je kontrolnu grupu. Istraživanje je sprovedeno od avgusta 2012. do marta 2014. godine. Sve žene uključene u studiju su porođene na Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Srbije.

Istraživanje je započeto nakon dobijanja saglasnosti Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu i saglasnosti Etičkog komiteta Kliničkog centra Srbije. Od svih pacijentkinja je pre uključivanja u studiju dobijena potpisani pristanak o informisanosti (informisani pristanak) u skladu sa Helsinškom Deklaracijom od 1975. Koja je revidirana 2000. godine.

Uzorkovanje krvi i salive kao i periodontalni pregled je vršeno u prvih 48 sati nakon porođaja. Za ovo vreme uzimanja uzoraka odlučeno je zbog toga što se prevremeni porođaj najčešće ne može sa sigurnošću predvideti. Kada prevremeni porođaj počne, obično se relativno brzo i završava, zbog čega nije moguće planirati uzimanje uzoraka krvi u tačno određenom periodu. Kontrolnu grupu žena su činile žene koje su porođene u terminu istog dana i smeštene u istu sobu kao i prevremeno porođene žene iz ispitivane grupe.

U istraživanje su uključene samo žene sa jednim novorođenčetom porođene prirodnim putem. Podaci za žene i njihovu novorođenčad su dobijeni iz istorije bolesti i protokola porođaja.

Gestaciona starost je određivana na osnovu datuma poslednje menstruacije i na osnovu ultrazvuka. Žene koje su se porodile pre navršene 37. nedelje gestacije su predstavljale ispitivanu grupu.

Kriterijumi za isključivanje su bili sledeći: multiple trudnoće, trudnoće nastale primenom asistiranih reproduktivnih tehnika, fetalne urođene anomalije, dijabetes, preeklampsija, HELLP sindrom, intra-amnijska infekcija (horioamnionitis) i infekcije drugih lokalizacija ako je telesna temperatura bila veća od 38 °C. Uzorkovanje krvi i salive je vršeno neposredno pre ispitivanja stanja parodonticijuma.

Parametri majke koji su ispitivani su starost, paritet, krvna grupa ABO I Rh sistema, sekretorni status, broj leukocita, hemoglobin, broj trombocita, stanje parodontijuma, i IL1 beta, IL-6, TNF alfa, PGE2 i CRP u plazmi i salivi.

Parametri korišćeni za procenu stanja novorođenčeta su bili pol, telesna masa na rođenju i Apgar-skor u prvom minutu.

Uzorkovanje krvi

Za istraživanje je korišćena antikoagulisana krv sa Etilen-Di amino Tetra sirćetnj kiselinu (EDTA) (eng. EthyleneDiamineTetra-Acetic acid - EDTA). Krv je uzorkovana iz antekubitalne vene u EDTA vakum epruvete od 4 ml (Becton Dickinson, UK). Nakon uzorkovanja krvi a najduže 1 sat nakon uzorkovanja uzorci krvi su centrifugirani 15 minuta pri brzini od 3000 obrtaja u minutu (rpm). Nakon centrifugiranja supernatantna plazma je podeljena u nekoliko porcija i zamrznuta na -70°C i čuvana je na toj temperature do momenta testiranja. Ostatak sadržaja epruvete (preostala plazma I eritrociti) je korišćen za određivanje krvne grupe.

Uzorkovanje salive

Za ispitivanje je korišćena nestimulisana pljuvačka koja je skupljana u staklene epruvete od 10 ml. Pre početka sakupljanja nisu korišćena antiseptična sredstva za ispiranje usta. Sakupljena pljuvačka je najdalje jedan sat od momenta sakupljanja centrifugirana 20 minuta na 4°C pri brzini od 3500 rpm. Dve trećine supenatanta pljuvačke je podeljen u porcije i zamrznut -70°C radi daljeg testiranja na citokine. Ostatak salive je podvrgnut kuvanju u trajanju od 10 minuta. Nakon kuvanja epruvete sa prokuvanom salivom su centrifugirane 10 min pri brzini od 3500 rpm. Odvojen je supernatant u posebne epruvete I čuvan na -20°C radi daljeg određivanja sekretornog statusa.

Svaka porcija uzoraka krvi i salive je odmrznut samo jednom i korišćen samo za jedan test.

Ispitivanje periodontalnog statusa

Stanje potpornih tkiva zuba utvrđivano je kliničkim pregledom na osnovu precizno definisanih kliničkih parametara. Periodontal measurements include following periodontal clinical parameters: Probing Depth (PD), Clinical Attachment Level (CAL), Bleeding on Probing (BOP), Visible Plaque Accumulation (PI). Primena ovih parametara je omogućilo dobijanje podataka na osnovu kojih se utvrdilo da li se radi o zdravim parodontalnim tkivima ili zapaljenskim oboljenjima parodontijuma, gingivitisu i parodontopatiji. Parodontološki pregled je izvršen u prvih 48 časova nakon porođaja. Prema parodontalnom statusu ispitanivanih porodilja, na osnovu kriterijuma američke Akademije za parodontologiju (Armitage 1999) izvršena je podela na: 1) porodilje sa klinički zdravim parodontijumom, 2) porodilje sa gingivitisom i 3) porodilje sa parodontopatijom

Zdrav parodontijum je definisan ako je : 1) dubina sondiranja bila manja od ili jednaka 3mm i nivo pripojnog epitela 0 mm, 2) krvarenje na provokaciju nakon sondiranja bilo prisutno na manje od 10 % ukupno pregledanih zuba, 3) bila odsutna inflamacija gingive i 4) porodilja imala više od 20 zuba

Gingivitis je definisan na osnovu sledećih kriterijuma: 1) prisutna inflamacija gingive, 2) dubina sondiranja veća od 3 mm i 3) vrednost nivoa pripojnog epitela 0 mm

Parodontopatija je definisana na osnovu sledećih kriterijuma: 1) dubina sondiranja veća od 3 mm, 2) vrednost nivoa pripojnog epitela veća od 0 mm i 3) prisustvo više od 20 zuba

Određivanje krvne grupe i sekretornog statusa

Za određivanje krvnih grupa ABO i Rh sistema korišćen je svež uzorak krvi uzet sa EDTA kao antikoagulumom. Određivanje krvnih grupa je izvedeno standardnom hemaglutinacionom tehnikom u epruveti. Nakon centrifugiranja (10 minuta na 3000 obrtaja u minute) izdvojen je supernatant (plazma) a eritrociti su resuspendovani u fiziološkom rastvoru kao 2-3% (v/v) suspenzija. Testiranje je

izvedeno u 6 epruveta. U 4 obeležene epruvete 12x75 mm pipetirano je po 50 uL test seruma (anti-A, anti-B, anti-AB I anti-D) i u svaku je dodato po 50 uL suspenzije eritrocita. U preostale dve epruvete je pipetirano po 100 uL pacijentove plazme a nakon toga su dodavani test eritrociti krvne grupe A I krvne grupe B po 50 uL. Epruvete su blago promešane i inkubirane na sobnoj temperature (22°C) 10 minuta. Nakon inkubacije epruvete su centrifugirane 3 minuta pri brzini od 2000 obrtaja u minutu. Rezultati su čitani golim okom blagim mućkanjem sadržaja centrifugiranih epruveta. Prisustvo aglutinacije je označavalo pozitivan rezultat odnosno prisustvo datog antigena na ispitivanim eritrocitima.

Sekretorni status je određivan iz uzoraka prokuvane salive upotrebom metoda inhibicije hemaglutinacije. Komercijalni antiserumi (anti-A, anti-B) su zbog visokog titra najpre razblaživani 1:16 kako bi se pri testiranju izbegli lažno negativni rezultati. Anti-H test reagens nije razblaživan. Za svakog pacijenta su pripremljene po 3 epruvete i u svaku je pipetirano po 50 uL pripremljene salive, zatim je pipetirano po 50 uL odgovarajućeg test seruma (anti-A, anti-B, and anti-H). Sadržaj epruveta je blago promešan i inkubiran 10 minuta na sobnoj temperaturi. U tom periodu očekivana je neutralizacija antiseruma antigenima prisutnim u pljuvački. Nakon prve inkubacije u svaku epruvetu se dodaju test eritrociti odgovarajuće krvne grupe (A, B, O). Epruvete se blago promešaju i inkubiraju još 10 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon druge inkubacije epruvete se centrifugiraju 3 minuta na 2000 obrtaja u minutu radi evaluacije rezultata. Posmatranje aglutinacije se vrši golim okom. Odsustvo aglutinacije predstavlja pozitivan rezultat i osoba se smatra sekretorom za ispitivani antigen. Pozitivna reakcija aglutinacije predstavlja negativan rezultat a testirana osoba se karakteriše kao non-sekretor.

Za određivanje krvnih grupa i sekretornog statusa korišćeni su sledeći komercijalni antiserumi: 1) monoklonski anti-A, anti-B, anti-AB I anti-D proizvodnje firme Lorne, Velika Britanija, 2) anti-H lektin firme CE Immunodiagnosics, Nemačka. Test eritrociti (A, B, O) su domaće proizvodnje, pripremljeni u samoj laboratoriji. Uz sve testove su uključene I kontrole. Svaki deo uzorka krvi ili salive je odmrznut I korišćen samo za jednu analizu I nakon toga je odstranjen.

Svi testovi su podrazumevali određivanje odgovarajućih kontrola nakon čega je sledilo testiranje uzoraka.

Određivanje IL1 beta, IL-6, TNF alfa i PGE2

Koncentracije IL 1 beta, IL 6 i TNF alfa su određivane dostupnim komercijalnim enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) testovima po uputstvu proizvođača.

Za određivanje IL1-beta, IL-6 i TNF alfasu korišćeni ELISA testovi visoke osetljivosti (high sensitivity eBioscience kits) Austrijske proizvodnje, a za određivanje PGE2 korišćen je enzim inuno esej (EIA) visoke osetljivosti (High Sensitivity EIA kit Enzo Life Science) nemačke proizvodnje. Pre testiranja uzorci su odmrzavani i ponovo centrifugirali kako bi bili pogodniji za testiranje. Za svaki parameter pripremljena je i obeležena mikrotitraciona ploča veličine 8x12 jamica (ukupno 96 reakcionih mesta). Mikrotitracione ploče su već fabrički pripremljene i obložene antiteloma specifičnim za svaki traženi parameter. Za svaki testirani parameter su zajedno sa uzorcima testirani odgovarajući standardi i kontrole u duplikatu. Nakon pipetiranja mikrotitraciona ploča se inkubira kako bi se antigen (traženi parameter) i antitelo međusobno vezali. Nakon predviđenog vremena za inkubaciju mikrotitraciona ploča se ispiri tečnošću za ispiranje najmanje tri puta kako bi se odstranio nevezani material. Sa mikrotitracione ploče se filter papirom odstranjuje višak tečnosti za ispiranje i u mikrotitracione jamice se dodaje konjugat koji se sprema neposredno pre upotrebe. Konjugat je antitelo na stvoreni kompleks antigen-antitelo. Konjugat je obeležen kako bi u reakciji sa supstratom razvilo boju. Nakon inkubacije sa supstratom mikrotitraciona ploča se ponovo ispiri i nakon odstranjenja tečnosti za ispiranje dodaje se supstrat. Nakon što se doda supstrat mikrotitraciona ploča se inkubira u mraku kako bi se razvila boja. Intenzitet boje je proporcionalan količini testiranog parametra. Posle propisanog vremena, razvijanje boje je stopirano sumpornom kiselinom i absorbanca je u naznačenom vremenu pročitana na automatskom čitaču mikrotitracionih ploča Sunrise, (Tecan Dorset, UK). Koncentracija ispitivanih medijatora zapaljenja je bila direktno proporcionalan intenzitetu boje u ispitivanom materijalu, izuzev u slučaju primene ELISA kita za evaluaciju PGE₂. U slučaju određivanja koncentracija PGE₂ primenjen je

kompetativni ELISA test, gde je intezitet dobijene boje u uzorcima i standardima. bio obrnuto proporcionalan u odnosu nakon koncentraciji PGE₂.

Vrednosti leukocita, hemoglobina i trombocita su određivane u okviru krvne slike na hematološkom brojaču Advia 2021i (Siemens, Nemačka).

CRP je određivan nefelometrijski komercijalnim visoko osljljivim CRP testom (hsCariophase CRP) na aparatu BNProSpec firme Siemens, Nemačka.

Statistička analiza

Za statističku obradu su korišćeni opisni parametara od značaja (frekvencije, procenti, prosek, medijana, standardna devijacija (SD) i opseg). Za ispitivanje saglasnosti uzoračkih raspodela sa normalnom raspodelom korišćeni su testovi: Kolmogorov-Smirnov i Shapiro-Wilk. Za ispitivanje razlike biohemiskih parametara i godina starosti korišćen je Mann-Whitney test. Distribucija sekretornog statusa kao I distribucija u odnosu na stanje parodoncijuma je testirana Fisher's egzaktnim testom. Ispitivanje povezanosti faktora od značaja primenom statističkih testova (Pearson χ^2 test, Fisher exact test, Wilcoxon rank sum test, Kruskal Wallis test, t-test. Za ispitivanje korelacije između kliničkih i biohemijskih parametara kao i između salive i plazme korišćen je Spearmanov koeficijent test korelacije Za statistički obradu upotrebljen je komercijalni softver SPSS 20.0, Inc., Chicago, IL, USA. Za nivo statističke značajnosti biće usvojena vrednost $\alpha=0.05$

4. REZULTATI

U istraživanje je uključeno 112 porođenih žena. Pedeset šest njih je porođeno prevremeno i 56 je porođeno u terminu. Starosna dob žena uključenih u istraživanje kretala se od 17 do 41 godine. Demografske i kliničke karakteristike ispitivanih žena su prikazane u Tabeli 1.

Ispitivane grupe pacijenata su bile homogene u odnosu na godine starosti i paritet. Zastupljenost krvnih grupa u ABO i Rh sistemu kao i sekretorni status ne pokazuje razliku između ispitivane grupe i kontrole.

U obe ispitivane grupe bilo je ukupno 58 (51.2%) devojčica i 54 (49.8%) dečaka tako da je odnos devojčica i dečaka 1.1 u korist devojčica. Distribucija pola novorođenčadi pokazuje statistički značajno veću zastupljenost ($p < 0.01$) muškog pola u grupi prevremeno porođenih žena u odnosu na grupu žena porođenih u terminu (57.2% vs 39.3%). Odnos dečaka i devojčica bio je 1.333:1 u grupi prevremeno rođenih dok je taj odnos u grupi rođenih u terminu bio 0.647:1. Rizik za prevremeni porođaj kod žena sa muškim fetusom je bio 2.2 puta veći (OR=2.222 95% interval poverenja (IP:1.0455 - 4.7367, $z=2,068$, $p=0,0386$) u odnosu na žene sa ženskim fetusom.

U ispitivanoj grupi prevremeno porođenih žena bilo 35 prvorotki a u grupi žena porođenih u terminu bile su 34 žene. U grupi prevremeno porođenih žena bilo je 18 prvorotki sa muškim fetusom, dok je u kontrolnoj grupi bilo 13 (51.4% vs 38.2%) na osnovu čega se uočava da je veća zastupljenost muškog pola kod prevremenog porođaja tako da je rizik za prevremeni porođaj veći kod prvorotki sa muškim fetusom (OR 1.7, 9%IP: 0.6562-4.4583). Međutim, dobijena razlika nije bila statistički značajna ($p=0.27$).

U grupi prevremeno porođenih žena dijagnostikovana je intraventrikularna hemoragija (IVH) kod troje dece i periventrikularna leukomalacija kod jednog deteta. U grupi žena porođenih u terminu nije detektovana ni IVH ni periventrikularna leukomalacija.

U našem istraživanju među decom sa telesnom masom manjom od 3000 grama bilo je više dečaka 35/64 (54.7%) i odnos dečaka i devojčica bio je 1.21:1, a u grupi dece sa telesnom masom većom i jednakom 3000 g bilo je 19/48 (39,6%) dečaka tako da je odnos dečaka i devojčica 0.90:1 (Tabela 2).

Tabela 1. Demografske karakteristike pacijenata porođenih prevremeno i porođenih u terminu

Parametar	Prevrem. porođaj N=56	Term. porođaj N=56	P
Starost majke, godine, $\bar{X} \pm SD$	30.7±5.5	27.0±3.9	Ns
Krvna grupa majke (ABO), n(%):			
O	16 (28.6)	14 (25.0)	Ns
A	24 (42.8)	28 (50.0)	Ns
B	14 (25.0)	12 (21.4)	Ns
AB	2 (3.6)	2 (3.6)	Ns
RhD faktor majke, n(%):			
Pozitivan	46 (82.1)	50 (89.3)	Ns
Negativan	10(17.9)	6 (10.7)	Ns
Sekretorni status majke, n(%):			
Sekretor	44 (78.6)	44 (78.6)	Ns
Non-sekretor	12 (21.4)	12 (21.4)	Ns
Periodontalni status,n(%):			
Zdrav periodoncijum	4 (7.1)	31 (55.3)	<0.01*
Gingivitis	15 (26.8)	18 (32.1)	Ns
Periodontitis	37 (66.1)	7 (12.5)	<0.01*
Pol novorođenčeta, n(%):			
Ženski	21 (37.5)	34 (60.7)	0.04*
Muški	35 (62.5)	22 (39.3)	0.04*
Dužina na rođenju (cm) $\bar{X} \pm SD$	44.96±3.1	50.68±1.2	Ns
Telesna masa na rođenju (g) $\bar{X} \pm SD$	1862±381	3300±208	<0.05**
Apgar skor, $\bar{X} \pm SD$	8.02±	9.02±	<0.05**
Apgar skor 9-10/1 min	32 (57.2)	56 (100)	0.002
Apgar skor <7/1 min	5 (8.9)	0 (0)	NS
Paritet/trudnoća po redu			
Primipare	35 (62.5)	34 (60.7)	Ns
Multipare	21 (37.5)	22 (39.3)	Ns

\bar{X} srednja vrednost * χ^2 - Hi kvadrat test), **Kruskal–Wallis test

Razlika u zastupljenosti dečaka i devojčica u odnosu na telesnu masu prema Hi-kvadrat testu nije dostigla statističku značajnost ($p=0.113$).

Prevremeno rođena novorođenčad imaju statistički značajno nižu telesnu masu. Apgar skor je, takođe, niži u odnosu na novorođenčad rođenu u terminu ali to nije dostiglo statističku značajnost (Tabela 1.). Rizik da se kod prevremeno porođenih žena rodi dete sa niskim Apgar skorom (Apgar skor <7) je 12 puta veći u odnosu na terminski porođaj (OD =12.068, 95% IP (0.6511 - 223.6735), $z=1.672$ $p= 0.0945$).

Tabela 2. Distribucija pola novorođenčadi u odnosu na telesnu masu

Pol novorođenčeta	Telesna masa novorođenčeta		Ukupno	P
	< 3000g	≥ 3000 g		
Muški	35 (54.7%)	19 (39.6%)	54	0.113
Ženski	29 (45.3%)	29 (60.4%)	58	
Ukupno	64 (100%)	48(100%)	112	

Među prevereno rođenom decom bilo je statistički znatno više dece koja su bila mala za gestacionu starost u poređenju sa decom rođenom u terminu ($p=0.04$) (Tabela 2.).

Tabela 3. Prikaz broja dece u odnosu na telesnu masu na rođenju u PP grupi i TP grupi

Telesna masa (TM)	PP	TP	OR; p
TM spod < 10-og percentila za gestacionu starost	8	1	9.1667; 0.04
TM od 10-90-og percentila za gestacionu starost	47	45	Ns
TM iznad 90-og percentile za gestacionu starost	1	10	11.9565; 0.02
Ukupno	56	56	112

TM-telesna masa, PP-prevremeno porođeni, TP-porođeni u terminu, Ns-nije signifikantno

Rizik da se kod prevremenog porođaja rodi dete malo za gestacionu starost je je 9 puta veći nego kod terminskog porođaja (OR=9.1667, 95% interval poverenja (1.1062-75.9601) $z=2.054$, $p=0,04$). U odnosu na grupu sa prevremenim porođajem, u

grupi sa terminskim porođajem je 12 puta češće rođeno dete iznad 90-og percentile (R=11.9565; 95% IP (1.4750 - 96.9225), z=2.324 p=0.02) (Tabela 3).

U grupi PP žena telesna masa novorođenčeta je bila manja kod onih koje su imale periodontitis u odnosu na PP žene bez periodontitisa, međutim to nije dostiglo statističku značajnost (Tabela 4).

Telesna masa novorođenčeta, na osnovu Mann-Whitney U testa, u grupi prevremeno porođenih žena ne pokazuje statističku razliku u odnosu na sekretorni status ($p=0.5552$).

Međutim, u odnosu na krvno grupnu pripadnost ABO sistema telesna masa novorođenčadi pokazuje statistički (Mann-Whitney U test) značajnu razliku između prevremeno porođenih majki O i B krvne grupe ($p=0.0394$).

Tabela 4. Prikaz telesne mase novorođenčeta kod prevremeno porođenih žena sa periodontitisom u odnosu na prevremeno porođene žene bez periodontitisa

	Stanje parodonticijuma		P*
	Periodontis N=35	Bez periodontitisa N=21	
Telesna masa, g Med (25-75 percentil)	2100 (1870-2500)	2150 (1900-2400)	0.47

*Mann Witnea test $p=0.47$

Naime, u grupi žena krvne grupe O telesna masa novorođenčadi je bila 2025g (1150-2350) a u grupi žena B krvne grupe telesna masa novorođenčadi je bila 2400g (2150-2550). Vrednosti su izražene kao Mediana a raspon od 25. do 75. percentila.

Zapaža se da je zastupljenost periodontitisa (66.1% vs 12.5%) značajno veća u grupi prevremeno porođenih žena (<0.001) u odnosu na kontrolnu grupu žena porođenih u terminu. Zastupljenost gingivitisa u PTB i TB grupi ne pokazuje statističku razliku ($p>0.05$). U obe grupe posmatrane zajedno bilo je 44/112 (39.3%) žena sa periodontitisom (Tabela 1.).

Od 44 žene sa periodontitisom prevremeno je porođeno 37 žena a 7 žena sa periodontitisom je porođeno u terminu. Razlika u zastupljenosti prevremenog porođaja

kod žena sa periodontitisom je statistički visoko značajna . Žene sa periodontitisom su 13 puta u većem riziku da se porode prevremeno u odnosu na žene bez periodontitisa (OR 13.63, 95% IP 5.188-35.817, z=5.3, p < 0.0001) (Tabela 5.).

Tabela 5. Zastupljenost PP u odnosu na prisustvo periodontitisa u ispitivanim grupama

Pol novorođenčeta	Stanje parodontijuma		Ukupno	P
	Periodontitis	Bez periodontitisa		
Prevremeni porođaj	37 (84.1%)	19 (27.9%)	56	p <0.0001
Terminski porođaj	7 (15.9%)	49 (72,1%)	56	
Ukupno	44 (100%)	68(100%)	112	

Analizom periodontalnog statusa i sekretornog statusa uočava se da u grupi sa zdravim parodontijumom ima samo 11.4% žena non-sekretora dok je u grupi žena sa periodontitisom broj non-sekretora statistički značajno viši i iznosi 31.8% žena (R=3.6, IP: 1.0685 - 12.2422, z=2,066, p=0.0388).

Tabela 6. Zastupljenost sekretora i non-sekretora u odnosu na periodonatalni status

Sekretorni status	Periodontalni status			Ukupno
	Zdrav parodontijum n (%)	Gingivitis n (%)	Periodontitis n (%)	
non-sekretor	4(11.4)*	6 (18.2)	14 (31.8)*	24
Sekretor	31 (88.6)	27 (81.8)	30 (68.2)*	88
Ukupno	35 (100)	33(100)	44 (100)	112

*Hi-kvadrat test $\chi^2=5.00$, p<0.05

Rezultati ukazuju da je rizik da trudnica non-sekretor oboli od parodontitisa 3.6 puta veći nego trudnica sekretor. Razlika u zastupljenosti gingivitisa u u odnosu na sekretorni status nije statistički značajna (p=0.59). Naime, od 24 non-sekretora 6 (25%) je imalo gingivitis a od 88 sekretora njih 27 (30.7%) je imalo gingivitis (Tabela 6.).

Među non-sekretorima bilo je 58.3% žena sa periodontitisom dok je među ženama sekretorima bilo 34.1% njih sa periodontitisom što je statistički značajno manje ($R=2,7$, IP: 1.0749- 6.8156, $z=2.113$, $p= P = 0.0346$) . Razlika u zastupljenosti pojedinih stanja parodonticijuma je značajna među non- sekretorima ($p=0.004$). Naime, među non-sekretorima samo je 16.7% sa zdravim parodonticijumom a 58.3% sa periodontitisom. Rizik da osoba non-sekretor oboli od periodontitisa je 3.8 puta veća u odnosu na osobu sekretora (OR 3.83, 95% IP 1.539-9.534, $z=2.881$, $p=0.004$). Među sekretorima su stanja parodonticijuma podjednako zastupljena (Tabela 7.)

Tabela 7. Zastupljenost stanja parodonticijuma u odnosu na sekretorni status

Sekretorni status	Periodontalni status			Ukupno n (%)
	Zdrav parodonticijum n (%)	Gingivitis n (%)	Periodontitis n (%)	
non-sekretor	4(16,7)	6 (25,0)	14 (58,3)*	24 (100)
Sekretor	31 (35,8)	27 (30,1)	30 (34,1)*	88 (100)

*Hi-kvadrat test $\chi^2=5.00$, $p<0.05$

U grupi prevremeno porođenih žena bilo je dvanaest žena non-sekretora kao i u grupi žena porođenih u terminu (Tabela 1.). Međutim, ukoliko se analizira učestalost PTP i TP u odnosu na sekretorni status i stanje parodonticijuma uočavaju se znatne razlike u zastupljenosti sekretora i non-sekretora. Naime, u grupi prevremeno porođenih žena non-sekretora bio je značajno veći procenat žena sa periodontitisom (83.3%) u odnosu na žene sa gingivitisom i u odnosu na žene sa zdravim parodonticijumom (OR=10, IP:1.447- 69.2643, $z=2.332$, $p=0.019$).

U grupi prevremeno porođenih žena non-sekretora nije bilo ni jedne žene sa zdravim parodonticijum dok je u grupi žena porođenih u terminu bilo najviše žena sa

zdravim parodontcijumom (61.4%)(OR= 39.2857 IP: 2.1842 - 706.5917, z=2.490, P=0.019).

Najmanje periodontitisa je bilo među ženama sekretorima porođenih u terminu (6.8%) što je u odnosu na prevremeno porođene žene sekretore statistički značajno manje (OR=21.7, IP:5.7982-812570, z=4.570, p<0.0001). Najveći broj prevremeno porođenih žena činile su žene sa periodontitisom (Tabela 8.).

Tabela 8. Broj žena u PP i TP grupi u odnosu na sekretorni status i stanje parodontcijuma

Periodontalni status	PP		TP	
	Sekretors n(%)	non-sekretors n(%)	Sekretor n(%)	non-sekretor n(%)
Periodontitis	27 (61.4)**	10 (83,3)	3 (6.8)	4 (33.3)
Gingivitis	13 (29.5)	2 (16.7)	14 (31.8)	4 (33.3)
Zdrav parodontcijum	4 (9.1)	0 (0.0)*	27 (61.4)*	4 (33.3)
Ukupno	44 (100)	12 (100)	44 (100)	12 (100)

*Hi-kvadrat test; $\chi^2= 43,6$, *P=0.01, **p<0.0001, PP-prevremeni porođaj, TP-terminski porođaj

Kod deteta jedne prevremeno porođene žene non-sekretora dijagnostikovana je jedina periventrikularna leukomalacija u celoj ispitivanoj grupi.

Poređenjem vrednosti ispitivanih laboratorijskih parametara u plazmi i pljuvački između prevremeno porođenih žena i žena porođenih u terminu uočava se da su vrednosti većine parametara veće u grupi prevremeno porođenih žena. Statistički visoko značajna razlika je zapažena u koncentracijama IL-1beta i PGE2 u plazmi između grupe prevremeno porođenih žena i žena porođenih u terminu (Tabela 4.). Razlika u koncentracijama ostalih parametara nije dostigla statističku značajnost.

Vrednosti TNF-alfa u salivi i krvi pokazuje nižu koncentraciju kod žena porođenih u terminu, međutim, razlika nije dostigla statističku značajnost.

Tabela 9. Markeri inflamacije i osnovne hematološke vrednosti u grupi prevremeno porođenih žena i žena porođenih u terminu

Parametar	Prevremeni porođaj Mediana (25.–75. percentil)	Terminski porođaj Mediana (25.–75. percentil)	P
IL-1beta, sal, pg/ml	10.837 (9.882-11.570)	11.778 (5.690-12.094)	Ns
IL-1beta, pl, pg/ml	0.0125 (0.0115-0,0141)	0.0099 (0.0075-0.0133)	<0.01
IL-6.sal, pg/ml	3.593 (1.938-4.187)	4.436 (3.570-4.932)	Ns
IL-6, pl, pg/ml	3.892 (1.365-4.784)	2.840 (2.037-4.270)	Ns
TNF-alfa,sal pg/ml	0.214 (0.000-0.448)	0.119 (0-0.413)	Ns
TNF-alfa, pl pg/ml	0.101 (0.040-0.133)	0.087 (0.000-0.289)	Ns
PGE2.sal, pg/ml	279 (62-567)	327 (215-423)	Ns
PGE2, pl, pg/ml	967 (107-1267)	461(36.1-1600)	<0.01
pl hsCRP, mg/L	20.45 (7.43-36.7)	19.0 (8.4-47.6)	Ns
Lex10 ⁹ /L	15.2 (13.4-16.8)	15.6 (12.7-18.2)	Ns
Hb, g/L	112 (95.6-118)	111 (101-122)	Ns
Tr x10 ⁹ /L	204 (202-265)	218 (201-293)	Ns

P- Mann-Whitney U test; Le-leukociti; Tr-trombociti; Sal-saliva, Pl-plazma

Međutim, razlike u koncentracijama IL-6 i TNF-alfa, između žena porođenih u terminu i prevremeno porođenih žena, ne pokazuju statističku značajnost (Tabela 9.).

Korelacije ispitivanih parametara

Na osnovu Spearman-ove korelacije, u grupi prevremeno porođenih žena ustanovljena je značajna korelacija između salivarnih koincentracija IL-1beta i PGE2 ($R=0.416$, $p=0.017$).

Značajnu korelaciju, u grupi prevremeno porođenih žena, pokazuju plazmatske koncentracije IL-1beta sa plazmatskim koncentracijama PGE2 ($R= -0.592$, $p<0.001$) i sa koncentracijama PGE2 u salivi ($R=0.377$, $p=0.048$). (Tabela 10, Grafikon 1.).

TNF-alfa u krvi pokazuje značajnu korelaciju i sa leukocitima u grupi prevremeno porođenih žena ($R= -0.616$, $p=0.0003$). Kod žena porođenih u terminu ove korelacije nisu dokazane (Tabela 10.).

Tabela 10. Značajne korelacije u grupi PP žena koje nisu dokazane u grupi TP žena

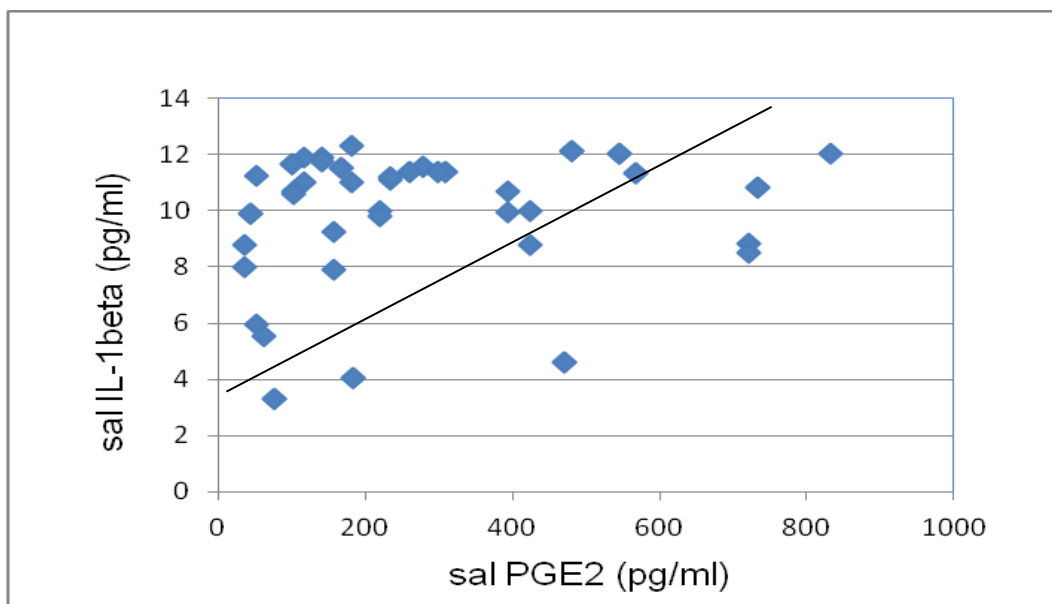
Parametri	PP R, p	TP R, p
sal IL-1b - sal PGE2	0.416, 0.017	0.336, 0.09
pl IL-1b - pl PGE2	-0.592, <0.001	0.138, 0.48
pl IL-1b- Pl TNF	0.377, 0.048	0.258, 0.286
sal IL-6- Sal TNF	-0.475, 0.046	-0.222, 0.445
pl IL-6- Sal PGE2	0.459, 0.001	-0.039, 0.837

Sal-saliva, IL-1b- IL1 β , pl-plasma, PTP-pretermijski porođaj, TP-termijski porođaj R-Spearmanov koeficijent korelacije, p-nivo statističke značajnosti

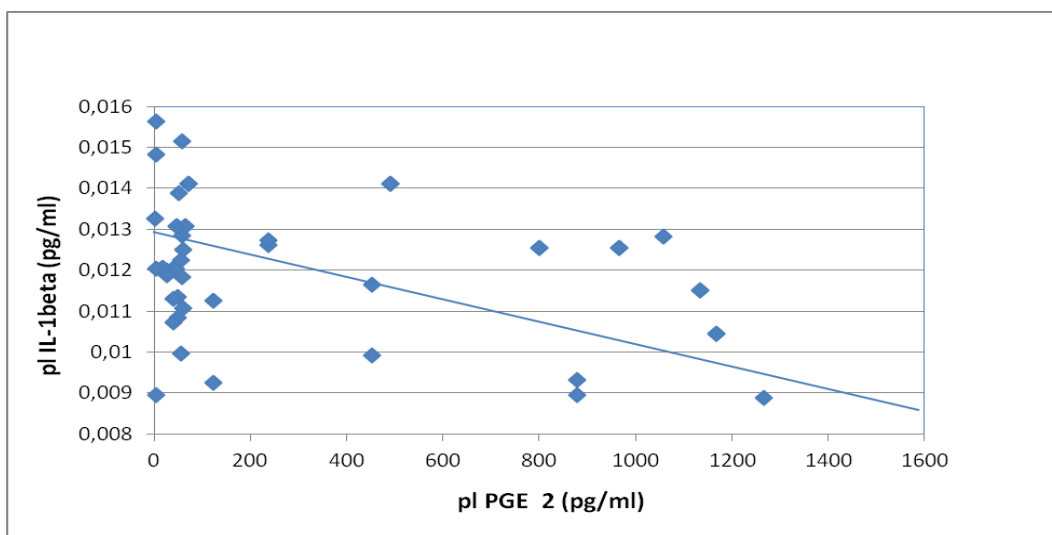
Na osnovu Spearmanove korelacije PGE2 u krvi pokazuje značajnu korelaciju sa TNF alfa i IL6 u krvi terminski porođenih žena ($R=0.431$, $p=0.0011$ and $R=-0.493$, $p=0.0056$), dok sa IL1 beta ne pokazuje korelaciju.

Za razliku od toga u PP grupi signifikantna asocijacija je nađena između salivarnog PGE2 i salivarnog IL1 beta ($R=0.416$, $p=0.017$). Između plazmatskih koncentracija IL-6 i TNF-alfa nađena je signifikantna korelecija i u PP grupi I u TP grupi ($R= -0.413$, $P= 0.004$; $R= -0.661$, $P = 0.00013$) respektivno (Tabela 12.).

U grupi žena porođenih u terminu (TP) ustanovljena je značajna korelacija salivarnih i plazmatskih koncentracija PGE2 sa godinama starosti porodilje ($R=0.428$, $p=0.0009$ i $R=-0.289$, $p=0.03$ respektivno) (Grafikon 3. i Grafikon 4.).



Grafikon 1 Prikaz korelacije između salivarnih koncentracija IL-1beta i PGE2 kod žena sa prevremenim porođajem ($R=0.416$, $p=0.017$)



Grafikon 2. Prikaz korelacije između koncentracija IL-1beta i PGE2 u plazmi kod žena sa prevremenim porođajem ($R= -0,592$, $p=0.001$)

Takođe, kod žena porođenih u terminu ustanovljena je korelacije između plazmatskih koncentracija TNF-alfa i PGE2 ($R= 0.431$, $p=0.001$) (Tabela 11., Grafikon 7.).

U grupi žena porođenih u terminu postoji korelacija između TNF u plazmi i salivi. Korelacija ovih parametara nije ustanovljena u grupi prevremeno porođenih žena. Između ostalih ispitivanih inflamatornih citokina ne postoji korelacije između koncentracije u salivi i koncentracije u plazmi ni u grupi prevremeno porođenih ni u grupi žena porođenih u terminu

Tabela 11. Značajne korelacije u grupi TP žena koje nisu dokazane u grupi PP žena

Parametri	PP R, p	TP R, p
pl TNF- Pl PGE2	0.283, 0.002	0.431, 0.001
Pl TNF - sal TNF	0.042, 0.808	0.501, 0.001
pl IL-6 - Sal TNF	-0.211, 0.280	-0.752, 0.0003
pl IL-6 - Pl PGE2	-0.026, 0.860	-0.493, 0.005
sal IL-6 - Sal PGE2	0.067, 0.722	0.499, 0.004
sal IL-6 - pl PGE2	0.223, 0.236	0.521, 0.003
sal PGE2 – starost	-0.265, p=0.06	-0.289, 0.03

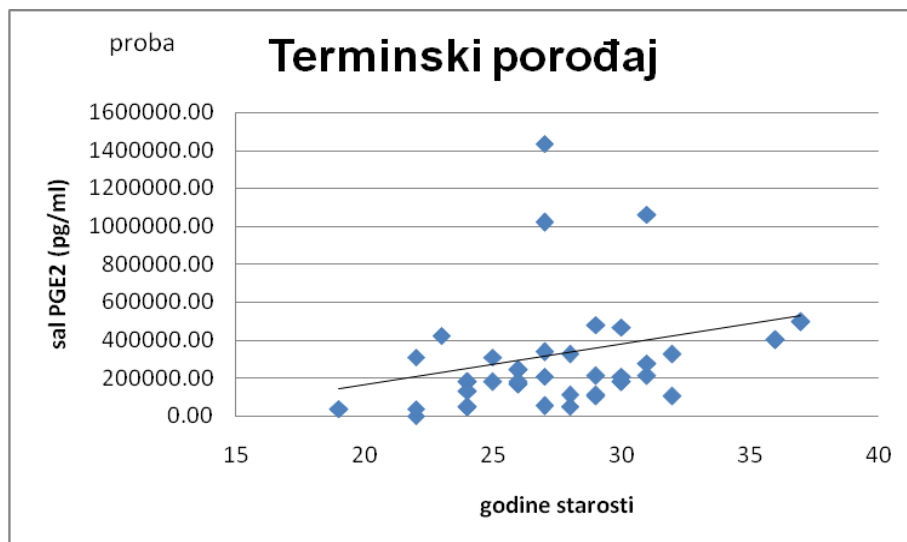
Sal-saliva, pl-plasma, R-Spearmanov koeficijent korelacije, p-statistička značajnost, PP-prevremeni porođaj, TP-terminski porođaj

Tabela 12. Značajne korelacije koje su dokazane u obe testirane grupe

Parametri	PP R, p	TP R, p
pl IL-6 - pl TNF	0.413, 0.004	0.661, 0.0001
pl IL 1- Le	-0.616, 0.0003	0.456, 0.015

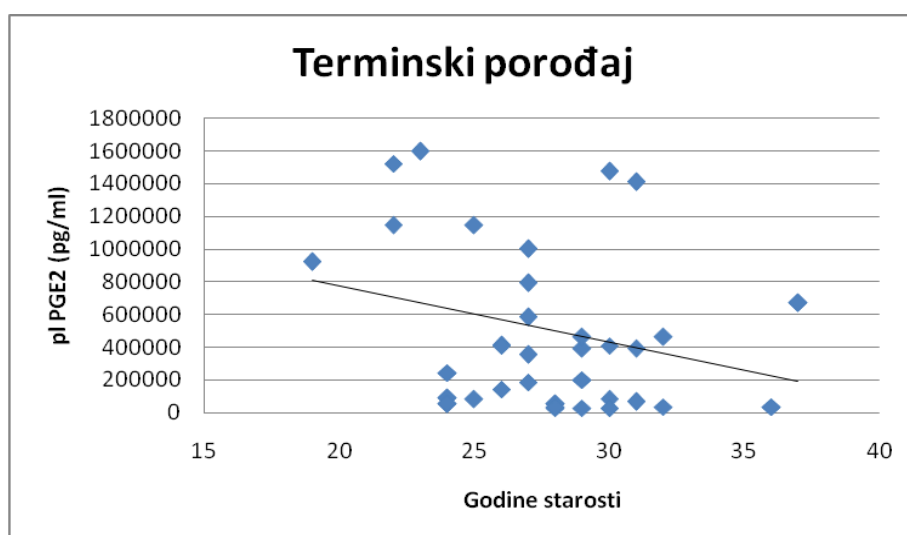
Obe ispitivane grupe, i PP žene i žene porođene u terminu pokazuju značajnu korelaciju između plazmatskih koncentracija TNF-a i IL-6.

U grupi porođenih žena u terminu koeficijent korelacije između plazmatskih koncentracija TNF-a i IL-6 je R= -0,661. p=0,0001, a u grupi prevremeno porođenih žena (R= -0,413, p=0,004) (Tabela 12 „Grafikon 5. i Grafikon 6.).



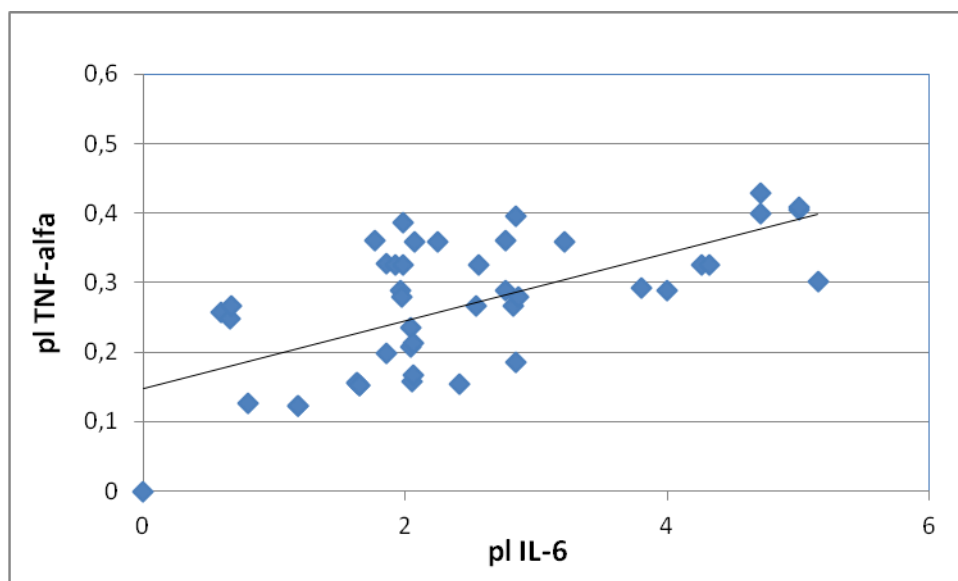
Grafikon 3. Prikaz korelacije između godina starosti i salivarnog PGE2 kod žena porođenih u terminu

I u PP grupi i u TP grupi IL-1 beta pokazuje značajnu korelaciju samo sa leukocitima periferne krvi (-R= 0.616, p=0.0003; R=0.456, p=0.015 respektivno) (Tabela 12.)

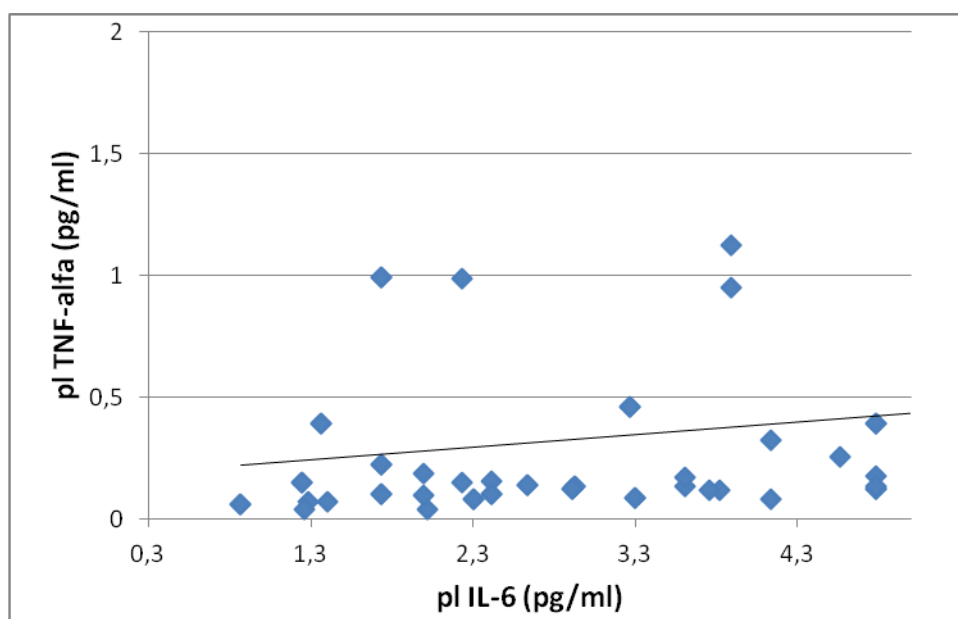


Grafikon 4. Prikaz korelacije između godina starosti i plazmatskog PGE2 kod žena porođenih u terminu

U grupi prevremeno porođenih žena postoji pozitivna korelacija između koncentracije CRP i vrednosti trombocita $R= 0.318$ $p= 0.017$.



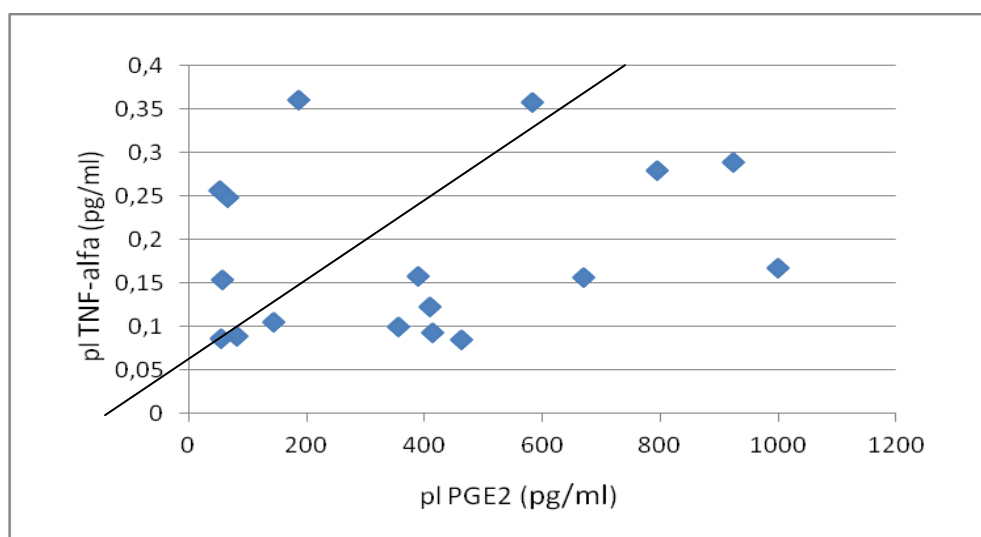
Grafikon 5. Prikaz korelacije između plazmatskih koncentracija TNF-alfa i IL-6 u grupi žena porođenih u terminu ($R=0,661$, $p<0,0001$)



Grafikon 6. prikaz korelacije između plazmatskih vrednosti IL-6 i TNF-alfa ($R=0.413$, $p=0.004$) kod prevremeno porođenih žena

U grupi prevremeno porođenih žena hemoglobin ne pokazuje korelaciju ni sa jednim ispitivanim parametrom dok u grupi žena porođenih u terminu korelacija postoji sa PGE2 i CRP-om ($R = -0.307$, $p = 0.023$).

S druge strane vrednosti i salivarnog i krvnog PGE2 su veće i u grupi sa gingivitisom i u grupi sa periodontitisom u odnosu na osobe sa zdravim parodontijumom, mada, to nije dostiglo statističku značajnost.



Grafikon 7. Prikaz korelacije između plazmatskih koncentracija TNF-alfa i PGE2 kod žena porođenih u terminu ($R = 0.413$, $p = 0.001$)

CRP u krvi je imao veće vrednosti u krvi osoba sa gingivitisom u odnosu na grupu sa periodontitisom (41.1 vs 6.8 mg/L) i ta razlika je statistički visoko značajna ($p < 0.01$). U našoj ispitivanoj grupi vrednosti PGE2 i u salivi i u plazmi pokazuju najniže vrednosti kod trudnica sa zdravim parodontijumom.

U odnosu na stanje periodoncijuma razlike u nivoima inflamatornih medijatora se uočavaju kod IL-6 u krvi koji pokazuje statistički značajno veće koncentracije u grupi žena sa periodontitisom u odnosu na grupu sa gingivitisom ($p = 0.034$).

Takođe, salivarne vrednosti TNF-alfa daje najniže vrednosti kod trudnica sa zdravim parodontcijumom (Tabela 13.).

Tabela 13. Inflammatorni markeri i osnovni hematološki parametri u ispitivani grupama prema periodontalnom statusu

Parametar	Zdrav Periodoncium Mediana (25.–75. percentil)	Gingivitis Mediana (25.–75. percentil)	Periodontitis Mediana (25.–75. percentil)	P
Starost, godine	29 (26-31)	23 (21-28.5)	32 (30.25-36)	Ns
IL-1beta, sal pg/ml	11.290 (10.994-11.670)	9.882 (5.690-10.947)	11.076 (6.862-11.509)	Ns
IL-1beta, pl pg/ml	0.0118 (0.0073-0.0251)	0.0126 (0.0089-0.0140)	0.0126 (0.0090-0.01619)	Ns
IL-6,sal pg/ml	2.778 (1.880-3.786)	1.974 (1.938-4.932)	3.890 (2.002-4.533)	Ns
IL-6, pl pg/ml	3.070 (1.650-3.801)	2.037 (1.365-2.224)	4.338 ^a (1.905-5.003)	0.03 4
TNF-alfa,sal pg/ml	0.448 (0.128-2.01)	0.536 (0.193-1.676)	0.488 (0.236-2.206)	Ns
TNF-alfa, pl pg/ml	0.261 (0.153-0.358)	0.138 (0.100-0.236)	0.133 (0.101-0.462)	Ns
PGE2,sal pg/ml	181 (104-327)	423 (44-484)	423 (116-691)	Ns
PGE2, pl pg/ml	413 (90-795)	1267 (635-1600)	883 (280-1316)	0.07 6
hsCRP, sal mg/L	0.0 (0.0-0.1)	0.0 (0.0-0.1)	0.0 (0.0-0.0)	Ns
hsCRP, pl mg/L	18.8 (8.2-24.8)	22.9 (4.68-47.3)	10.9 ^a (4,0-29.8)	0.044
Le x10e9/L	13.4 (12.5-16.0)	16.7 (15.4-18.5)	14.3 (10.7-18.7)	Ns
Hgb, g/L	116 (106-125)	105 (98-115)	105 (92-122)	0.05 6
Tr x10e9/L	250 (213-271)	222 (210-302)	204 (172-250)	Ns

Mediana (25. – 75. percentil); Le-leukociti, Hgb-hemoglobin, Tr-trombociti, CRP-C-reaktivni protein; a-
p<0,05 u odnosu na grupu sa gingivitisom

Između salivarnih i plazmatski vrednosti TNF alfa kod žena sa periodontitisom postoji pozitivna korelacija (R=0.630, p<0.01) kao i kod žena sa zdravim parodontcijumom (R=0.811, p<0.01).

Analiziranjem podataka između sekretora i non-sekretora zapaža se statistički značajna razlika u broju trombocita razlika (220 vs 183 x10⁹/L) (p=0.04). Razlike u ostalim parametrima ne pokazuju statističku značajnost (Tabela 14.).

IL1 beta kod non-sekretora pokazuje veće vrednosti i u salivi i u plazmi, međutim, to nije dostiglo statističku značajnost što se može pripisati malom uzorku.

Tabela 14. Markeri inflamacije i osnovni hematološki parametric između sekretora i non-sekretora

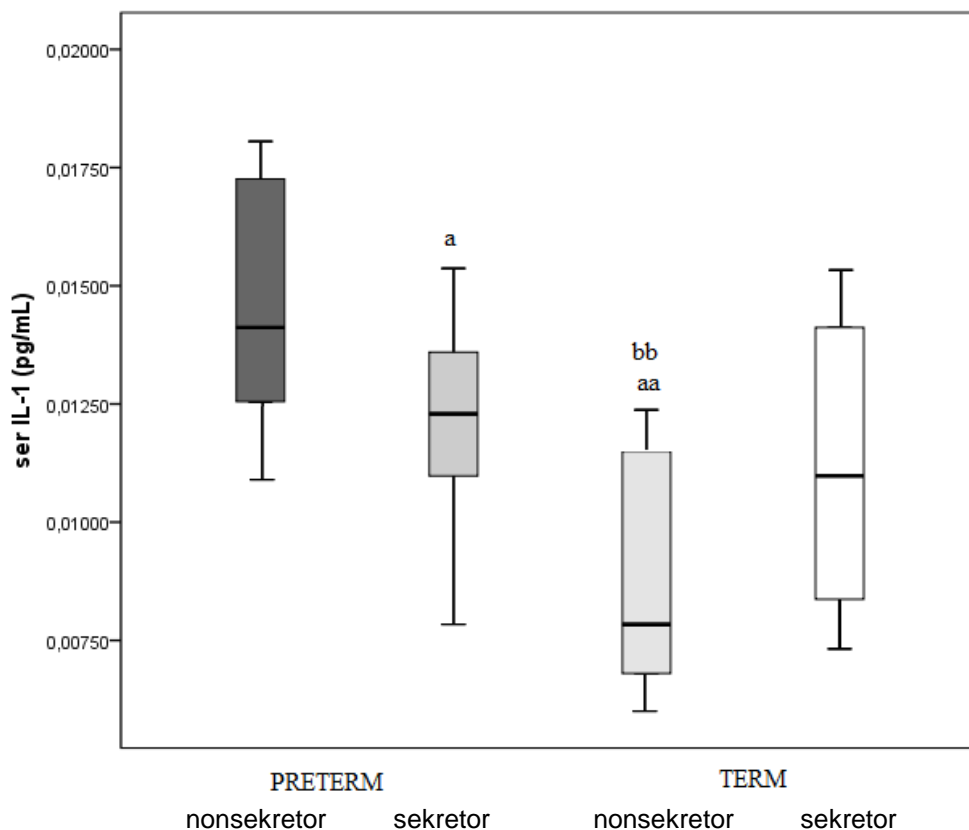
Parametar	Non-sekretor* Mediana (25.–75. percentil)	Sekretor* Mediana (25.–75.percentil)	P
Starost, godine	35 (33-37)	29.5 (23-31)	Ns
IL-1beta, sal, pg/ml	11.203 (10.834-11.953)	10.598 (5.690-11.953)	Ns
IL-1beta, pl, pg/ml	0.0149 (0.0126-0.0173)	0.0126 (0.0089-0.0137)	0.081
IL-6.sal, pg/ml	3.890 (3.593-4.187)	3.570 (1.938-4.648)	Ns
IL-6, pl, pg/ml	4.338 (3.892-4.784)	2.224 (1.365-4.270)	Ns
TNF-alfa,sal, pg/ml	0.159 (0.000-0.318)	0.000 (0.000-0.0368)	Ns
TNF-alfa, pl, pg/ml	0.060 (0.000-0.121)	0.000 (0.000-0.152)	Ns
PGE2.sal, pg/ml	506 (279-733)	327 (62-514)	Ns
PGE2, pl, pg/ml	454 (107-800)	1117 (142-1433)	Ns
CRP sal mg/L	0.000 (0.000-0.000)	0.000 (0.000-0.000)	Ns
CRP pl mg/L	11.3 (2.1-20.5)	23.6 (9.6-40.0)	0.031
Le x10 ⁹ /L	12.5 (9.8-15.2)	16.0 (13.4-19.1)	Ns
HGB g/L	104.8 (95.6-114.0)	111.5 (98.0-123.2)	Ns
Tr x10 ⁹ /L	183 (162-204)	220 (204-279)	0.040

Sal-saliva. Pl-plazma, Tr-trombociti, *Mediana(25 – 75 persentie); P- Mann-Whitney U test

Vrednosti IL-1b, IL-6, TNF-alfa i PGE2 posmatrane između sekretora i non-sekretora iako su bile različite nisu dostigle statističku značajnost. (Tabela 14.).

Međutim, ako se te vrednosti posmatraju u odnosu na stanje desni i termin porođaja uočava se da su kod žena non-sekretora sa priodontitisom koje su se

prevremeno porodile vrednosti IL-1beta bile statistički značajno više nego u ostalim grupama ($P < 0.001$) (Grafikon 8.).



Grafikon 8. Kvantitativno poređenje koncentracije IL-1b u krvi. Vrednosti IL-1b pokazuju značajnu razliku u poređenju sa vrednostima IL-1b žena non-sekretora prevremeno porođenih (^a $P < 0.05$, 0.01). Značajna razlika u nivou IL-1b postoji i u odnosu na žene sekretore prevremeno porođene (^{bb} $p < 0.01$). Najviše vrednosti IL-1b pokazuje grupa žena non-sekretora koje su porođene prevremeno. Vrednosti IL-1b su značajno veće kod prevremeno porođenih žena non-sekretora u odnosu na terminski porođene žene non-sekretore na nivou značajnosti $P < 0.01$. Za testiranje je korišćen Kruskal-Wallis i Mann-Whitney U test. Pravougaona polja predstavljaju prvi i treći kvartil (95% interval poverenja) a linija na sredini pravougaonika predstavlja medijanu. Krajevi verikalnih linija predstavljaju maksimalne i minimalne vrednosti.

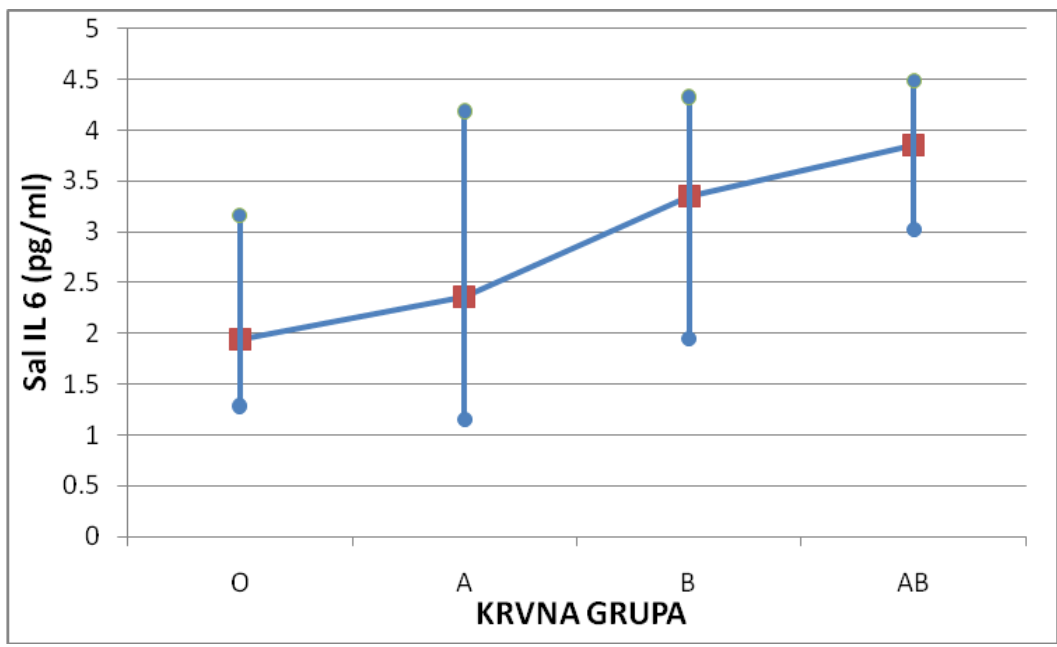
U odnosu na krvne grupe IL-1beta pokazuje najniže vrednosti u nultoj krvnoj grupi u odnosu na ostale krvne grupe ($p=0.05$) (Tabela 15.). PGE2 u salivi pokazuje najniže vrednosti u krvnoj grupi AB i razlika je statistički značajna u odnosu na grupu A i grupu B ($p<0.05$).

Tabela 15. Inflamatorni marker i osnovni hematološki parametri u odnosu na krvne grupe ABO sistema

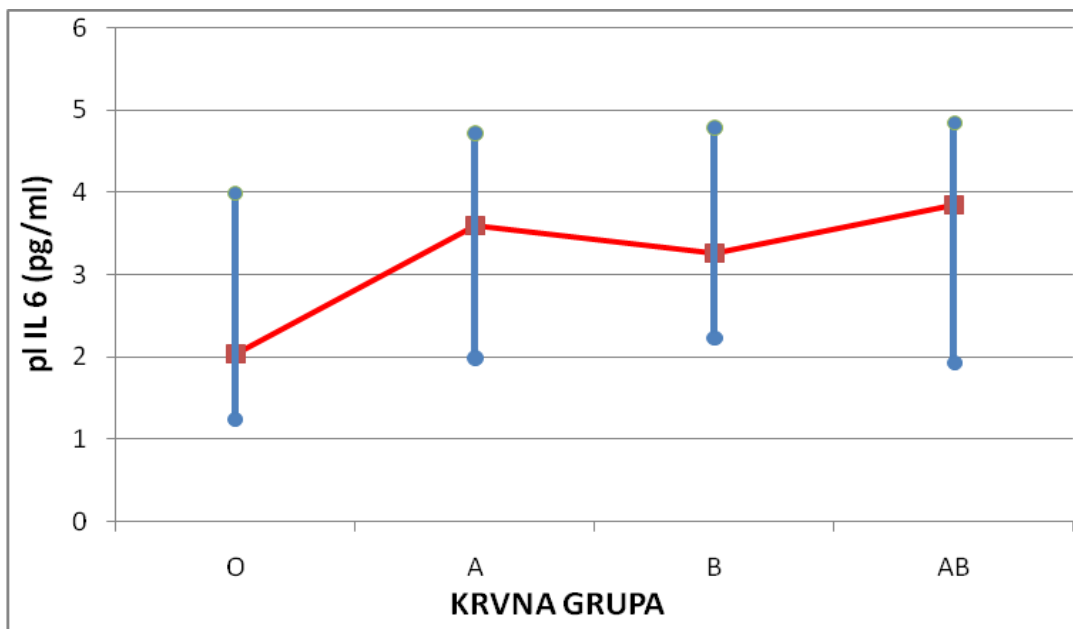
Parametar	KRVNA GRUPA				P
	O	A	B	AB	
Starost (godine)	29 (23-31)	33 (30-37)	30 (28-30)	31 (21-41)	Ns
IL-1beta, sal, pg/ml	9,882 (5,538-11,334)	11,302 (9,142-11,623)	11,378 (10,849-11,403)	11,644 (11,643-11,645)	Ns
IL-1beta, pl, pg/ml	0,01098* (0,0073-0,01255)	0,012030 (0,0094-0,0151)	0,012030 (0,0115-0,0141)	0,01121 (0,0101-0,0111)	0.05
IL-6.sal, pg/ml	1,938 (1,288-3,169)	2,358 (1,158-4,187)	3,352 (0,949-4,325)	3,853 (3,022-4,4796)	Ns
IL-6, pl, pg/ml	2,037 (1,243-3,994)	3,604 (1,992-4,713)	3,268 (2,233-4,784)	3,856 (1,928-4,138)	Ns
TNF-alfa, sal, pg/ml	0,431 (0,186-1,153)	0,451 (0,152-1,861)	0,388 (0,119-1,310)	0,405 (0,082-1,715)	Ns
TNF-alfa, pl, pg/ml	0,142 (0,091-0,279)	0,158 (0,112-0,324)	0,166 (0,113-0,392)	0,198 (0,082-0,321)	Ns
PGE2.sal, pg/ml	178 (61,8 -333)	279 (167-567)	298 (161-326)	100* (88.6-112)	<0.05
PGE2, pl, pg/ml	86 (66-413)	200 (107-1200)	220 (36-327)	54 (36-72)	<0,05
CRP sal mg/L	36,7 (13,6-47,6)	28,6 (10,2-43,4)	17,3 (7,3-18,6)	23,2 (9,2-31,8)	Ns
CRP pl mg/L	14,5 (13,4-16,8)	13,2 (9,8-19,9)	16,9 (12,3- 18,0)	11,9 (11,8-16,2)	Ns
Le x10e9/L	98 (91-112)	117 (103-121)	116 (111-122)	113 (108-120)	Ns
HGB g/L	222 (204-302)	255 (189-266)	209 (187-305)	194 (192-288)	Ns

Mediana (25th – 75th percentile); P- Kruskall-Wallis test, * $p<0,05$

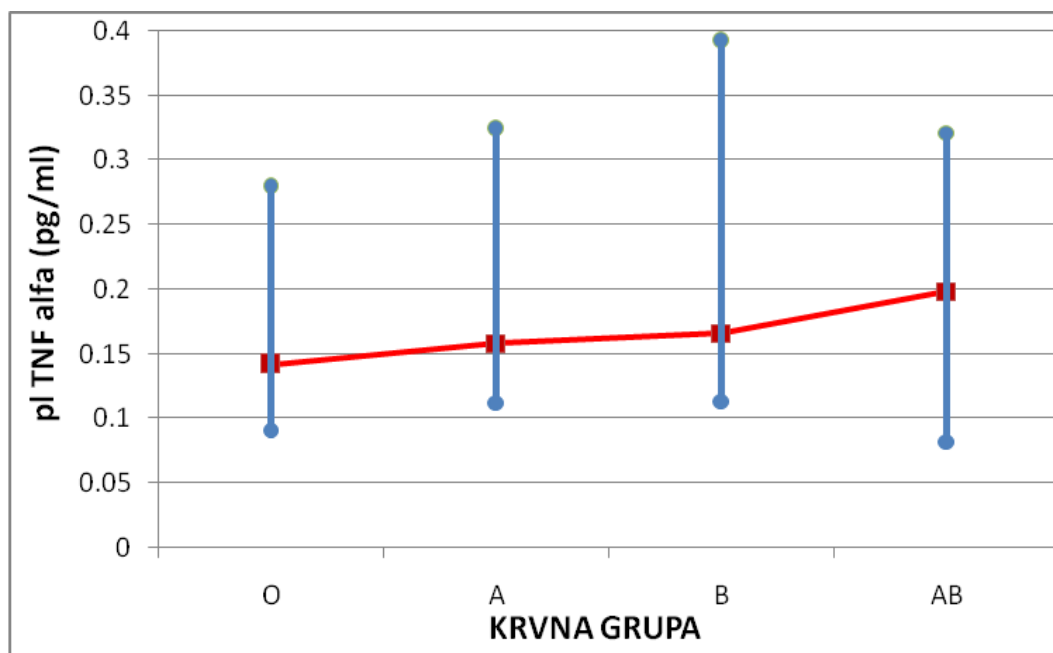
CRP u plazmi je bio najniži u grupi žena B krvne grupe ali razlika nije dostigla statističku značajnost. Koncentracije IL6 pokazuje najniže vrednosti kod osoba nulte krvne grupe. Koncentracije IL6 pokazuju sukcesivno veće vrednosti (od O, A, B do AB krvne grupe) tako da su najveće koncentracije kod osoba AB krvne grupe. Ostali ispitivani parametric ne pokazuju razliku u odnosu na krvnogrupnu pripadnost (Tabela 15, Grafikon 9. 10. 11.).



Grafikon 9. Prikaz nivoa salivarnog IL 6 u odnosu na krvnogrupnu pripadnost



Grafikon 10. Prikaz nivoa IL 6 u plazmi u odnosu na krvnogrupnu pripadnost



Grafikon 11. Prikaz nivoa TNF-alfa u plazmi u odnosu na krvnogrupnu pripadnost

U odnosu na godine starosti različiti medijatori koreliraju u PP i TP grupi. U grupi prevremeno porođenih žena godine starosti pokazuju pozitivnu korelaciju sa koncentracijom TNF-alfa u salivi, dok u grupi žena porođenih u terminu pozitivna korelacija postoji između godina starosti i koncentracije PGE2 u salivi (Tabela 16.).

Tabela 16. Prikaz korelacija pojedinih inflamatornih citokina u odnosu na godine starosti

Parametri	PP R, p	TP R, p
sal PGE2 – starost	0.131, 0.34	0.428, 0.0009
pl PGE2 – starost	- 0.265, 0.06	-0.289, 0.03
Sal IL 6 – starost	- 0.432, 0.019	0.234, 0.21
Sal TNF-alfa – starost	0.372, 0.027	0.318, 0.051

5. DISKUSIJA

Postoje brojni faktori rizika za prevremeni porođaj od kojih prethodni prevremeni porođaj nosi rizik 4 do 7 puta. Ovaj factor nosi u sebi i genetske i epigenetske komponente. Prvorotke su takođe u većem riziku za prevremeni porođaj a kod multipara prethodni Carski rez je factor rizika za prevremeni porođaj. Muški pol deteta je takođe factor rizika za prevremeni porođaj.

Brojne studije kohorte kao i studije preseka ukazuju na jaču ili slabiju povezanost između prevrenog porođaja i periodontitisa

Parodontopatija ima odlike i infektivnog i inflamatornog procesa, koju karakteriše lokalno povećanje proinflamatornih prostaglandina i citokina. Stepenn izraženosti parodontopatije zavisi od sekretornog statusa (Nikolić Lj 1996).

Patološki procesi na parodoncijumu mogu uticati na sistemske procese na tri načina:

1. diseminacijom parodontalnih mikrobioloških agenasa,
2. dejstvom lipopolisaharida patogena i
3. uticajem proinflamatornih medijatora na druga tkiva i organe.

Ispitivanja parodontalnih patogena kod prevremenog porođaja nisu ukazala na konkretni mikrobiološki agens koji bi prouzrokovao prevremeni porođaj (Bošnjak A 2006, Santos-Pereira SA 2007).

Lipopolisaharidi aktivacijom trombina i T-limfocita takođe utiču na tkivo uterusu i mogu dovesti do prevremenog porođaja (Sarno JL 2006, Bizargity P 2009).

Stanje parodoncijuma u izvesnoj meri utiče na funkciju alografta. Tako je ispitivanjem parodontopatije kod pacijenata sa transplantiranim bubrezima uočeno

brže pogoršanje funkcije bubrega u odnosu na bolesnike bez parodontopatije. (Buduneli N. 2005, Ioannidou E. 2010).

Za sada nije poznato da li ovi imunomodulatori koji se javljaju lokalno, kako kod termiskog tako i prevremenog porođaja, ukoliko se pojave u povećanoj koncentraciji u krvi stvoreni na udaljenom mestu bilo imunskim procesom ili infekcijom, mogu prouzrokovati prerani završetak trudnoće, odnosno da li mogu indukovati porođaj.

Imajući u vidu da se više od 75% perinatalnog mortaliteta i morbiditeta pripisuje prevremenom porođaju postoji poseban interes za otkrivanje uzroka prevremenog porođaja (Swamy GK 2008).

Studije pokazuju da periodontitis u trudnoći može biti nezavisni factor rizika za prevremeni porođaj. Mikrobiološke, imunološke studije kao i animalni modeli sugerišu da periodontalni process može uticati na fetoplacentarnu jedinicu i indukovati prevremeni porođaj (Pizzo G 2005).

Veliki broj studija ukazuje na povezanost periodontitisa i prevremenog porođaja (Buduneli N. 2005, Gumus 2016). Isto tako, izvestan broj studija ukazuje na brže propadanje alografta kod pacijenata sa peridontitisom (Ioannidou E. 2010).

Periodontitis je u našoj grupi dijagnostikovao kod 66.1% žena sa prevremenim porođajem a u 12.5% porođenih u terminu što je u saglasnosti sa radovima Dörtbudak-a i saradnika u čijem istraživanju je periodontitis dijagnostikovana u 20% žena porođenih u terminu i u 83% prevremeno porođenih žena (Dörtbudak O 2005). Kavar i saradnici navode da je kod žena sa klinički manifestnom formom periodontitisa oko 6 puta veći rizik za prevremeni porođaj (OR 5.8 (95% IP =1.2-37.5, p=0.04) (Kavar 2016).

Postoji nekoliko teorija o uticaju periodontitisa na prevremeni porođaj:

- 1) Direktno invazijom perio-patogena u fetoplacentarnu jedinicu gde stimulišu lokalno inflamaciju
- 2) Indirektno kada medijatori inflamacije cirkulacijom iz periodontalnog prostora i sinergistički pojačavaju inflamaciju
- 3) Delovanjem fetalnog inflamatornog odgovora na majčine oralne patogene (Sanz M 2013, Madianos 2013, Boggess K 2005)
- 4) Majčinom reakcijom odbacivanja kalema (alografta) (Peltier MR 2003).
- 5) Genetski, uticajem naslednih faktora

U našem istraživanju u grupi prevremeno rođenih bilo je statistički značajno više novorođenčadi muškog pola nego ženskog pola (57.2 vs 39.3%) što je u skladu sa rezultatima Peelen-a i saradnika koji su u nacionalnoj studiji kohorte utvrdili da je kod žena sa muškim fetusom povećani rizik za prevremeni porođaj u odnosu na žene sa ženskim fetusom (Peelen MJ2016). Isto tako bilo je više prvorođki sa muškim fetusom u grupi prevremeno porođenih žena u odnosu na kontrolnu grupu(51.4% vs 38.2%). Ferrero i saradnici smatraju da veća prevalenca fetusa muškog pola i veća prevalenca prvorođki čini da ovi rizični faktori doprinose u najvećoj meri pojavi prevremenog porođaja (Ferrero 2016)

Odnos dečaka i devojčica, u našem istraživanju, bio je 1.333 u grupi prevremeno rođenih dok je taj odnos u grupi rođenih u terminu bio 0.647. U istraživanjima Yi-Hao Weng i saradnika na 2,123,100 živorođenih među prevremeno rođenim (<37 nedelja gestacije) bio je odnos dečaka i devojčica 1.332 da bi sa većom gestacionom starosti pao na 0.899 u 41 nedelji gestacije (Weng YH 2015). S druge strane u istraživanjima istog autora, u odnosu na telesnu masu (TM) na rođenju broj dečaka je manji (0.850) pri telesnoj masi manjoj od 3000g. Proporcionalno telesnoj masi na rođenju raste broj novorođenčadi muškog pola i dostiže 1.902 pri TM od 4000g i više (Weng YH 2015). Za razliku od Weng-a i saradnika u našem istraživanju među decom sa telesnom masom manjom od 3000 grama odnos dečaka i devojčica bio je 1.21, a u grupi dece sa telesnom masom većom i jednakom 3000 g odnos dečaka i devojčica bio je 0.90.

Istraživanja Peelen-a i saradnika na 1 736 615 porođaja su pokazala da je muški pol u većem riziku za prevremeni porođaj (između 27 I 31 nedelje) bilo da je spontani ili prevremeni porođaj sa prevremenim prsnućem plodovih ovojaka (Peelen MJ, 2016).

Pretermijski porođaj može biti izazvan inflamatornom hipersenzitivnošću koja nastaje usled aktiviranja ciklooksigenaze-2 od strane IL-1beta. IL-1 β (Giraldo 2009).

U skladu sa literaturnim podacima, u našem istraživanju su plazma nivoi of IL-1 β , IL6, TNF alfa i PGE2 viši u grupi prevremeno porođenih žena u odnosu na kontrolnu grupu. Niži nivoi proinflamatornih citokina u terminskom porođaju se mogu objasniti dodatnim mehanizmima kojima je terminski porođaj pokrenut. S jedne strane, hipotalamo-pituitarna-adrenalna osovina zrelog fetusa povećava svoju aktivnost u porođaju a s druge strane, mehanizmom pozitivne povratke sprege signali iz uterusa u porođaju dovode do povećane sinteze oksitocita i receptora za oksitocin što sve zajedno utiče na intenzitet i učestalost kontrakcija glatke musculature uterusa (Helmer 2002).

Mnoge studije su analizirale polimorfizam TNF-alfa ali su rezultati kontradiktorni (Um 2003, Rubatu 2005, Gu 2013). TNF-alfa pored poznate prinflamatorne uloge ima i prokoagulantno djstvo na endotel. Postoje dokazi o uticaju pojedinih polimorfizana TNF-alfa na pojavu ishemije (Siran 2001). Viši nivoi IL-1beta, IL-6 IPGE2 se mogu objasniti inflamacijom u periodontalnom tkivu, hiperaktivnim IL-1beta, reakcijom odbacivanja alografta ili genetskim faktorima. Prema radovima Kedzierska-Markowicz nivo IL-1 β je nezavisni predictor prevremenog porođaja (Kedzierska-Markowicz)

U biohemijskim procesima koji su deo inflamatorne reakcije karakteristične za porođaj, TNF-a je jedan od inicijalnih citokina u inflamatornoj kaskadi koja dovodi do povećanog stvaranja ciklooksigenaze (COX)-2 i prostaglandina koji su ključni u stimulaciji miometrijuma I sazrevanju cerviksa (Roth-Isigkeit 2001, Peltier 2010).

U našem istraživanju vrednosti TNF-alfa pokazuje niže vrednosti kod žena porođenih u terminu u odnosu na prevremeno porođene žene. Rezultati Gumus-a i saradnika ukazuju da u trudnici bez komplikacija kod trudnica sa zdravim parodontcijumom vrednosti TNF-alfa i PE2 u salivi su niže nego u populaciji zdravih žena van trudnoce (Gumus P 2016). U kontrolnoj grupi zdravih trudnica vrednosti TNF-alfa su bile niže i u plazmi i u salivi, mada razlika, nije dostigla statističku značajnost što može biti pripisano relativno malom uzorku ispitivanih žena. Slične koncentracije TNF-alfa među pacijenatima sa PP i TB su nađene u rezultatima Chmaj-Wierzchowske i saradnika koji smatraju značajnim citokine i njihov molekularni mehanizam za pokretanju prevremenog porođaja. (Chmaj-Wierzchowska K, 2016). Ovo govori u prilog tome da se mehanizam PTB ne razlikuje od TP odnosno, da isti citokini učestvuju i u jednom i u drugom a razlika postoji samo u njihovoj koncentraciji.

Više serumske vrednosti TNF- α i PGE2 su karakteristične za žene sa komplikacijama u trudnoći a koje neminovno vode do prevremenog porođaja. Tako su u radovima Stadelmann –a i saradnika vrednosti TNF- α i PGE2 bile znatno više kod žena sa preeklampsijom u poređenju sa normotenzivnim trudnicama (Stadelmann 2015).

Pored toga studije su pokazale da su, kod periventrikularne leukomalacij fetusa i neonatusa, povećani nivoi proinflamatornih citokina što predstavlja veliki rizik za nastanak konvulzija kod neonatusa. U tom smislu veliki uticaj ima TNF alfa i IL-1-beta. Pored povećanog nivoa citokina na razvoj periventrikularne leukomalacije utiče i polimorfizam citokina (Yoon BH, 1997, Gabriel ML 2016).

Citokini, interleukini (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF α), prostaglandini i leukotrieni, nošeni krvnom strujom dovode do povećanja propustljivosti krvno-moždane barijere i u krajnjem ishodu do periventrikularne leukomalacije (McAdams RM 2012)

Proinflammatorni citokini i PGE2 se, u odgovoru na infekciju proizvode kaskadno.

TNF-alfa je poznat kao rani medijator inflamatorne kaskade može stimulirati oslobađanje IL-1beta. Nadalje, IL-1beta stimuliše sintezu IL-6 (Roth-Isigkeit 2001). I na kraju kaskade se proizvodi PGE2. Prostaglandini deluju kao dugotrajni medijatori inflamacije

IL-1b je inicijator kaskadne aktivacije citokina koja u poslednjem koraku dovodi do sekrecije prostaglandina. S obzirom da se IL-1b povećava tokom oštećenja tkiva, akutnih i hroničnih oboljenja smatra se da povećane koncentracije IL-1b u plazmi mogu dovesti do prevremenog porođaja (Dinarello CA 2010).

U našoj grupi IL-1beta je značajno viši u PP u odnosu na TP grupu što je u saglasnosti sa radom Kedzierska-Markowicz i saradnika koji navode da je nivo IL-1b nezavisni predictor prevremenog porođaja (Kedzierska-Markowicz A 2015). S druge strane rezultati istraživanja Kinney –a i Rathnayake-a, ukazuju na značajnu korelaciju IL-1b i MMP-8 sa periodontalnim statusom. Prema njihovim rezultatima salivarni biomarkeri koreliraju sa kliničkim stadijumom oboljenja I sa stepenom periodontalne inflamacije (Rathnayake N, 2013, Kinney JS 2011).

U našem istraživanju PGE2 u krvi pokazuje dobru korelaciju sa TNF alfa i IL-6 u krvi kod žena porođenih u terminu, dok sa IL-1 beta ne pokazuje korelaciju što je u saglasnosti sa našim rezultatima u literaturi (Bamberg C 2012, Kedzierska-Markowicz A 2015).

Prema našim rezultatima, kod PP žena, IL-1 beta u salivi pokazuje značajnu pozitivnu korelaciju sa PGE2 u salivi, dok IL-1 beta u krvi pokazuje značajno negativnu korelaciju sa PGE2 u krvi. Ovo se može objasniti veoma kratkim poluživotom IL-1 beta zbog čega pokazuje pozitivnu korelaciju samo na mestu nastanka dok u plazmi, u kompartmanu koji je udaljen od mesta lezije-inflamacije korelacija

postaje negativna tj nakon kaskadne aktivacije preko IL6 stvara se u većoj količini dugotrajni aktivator inflamacije, PGE2, a nivo IL1 beta zbog kratkog poluživota pada. Prostaglandin je poznat kao dugotrajni medijator inflamacije (Lopez-Castejon G 2011, Moors MA 2000, Radwan marta 2010).

Za razliku od zdrave populacije, gde prema istraživanjima Riis-a i saradnika postoji pozitivna, korelacija između plazmatskih i salivarnih vrednosti IL-1 beta, u našem istraživanju nije postojala signifikantna korelacija ni u grupi prevremeno porođenih žena ni u grupi žena porođenih u terminu (Riis 2014). S druge strane, La Fratta i saradnici nisu našli korelaciju između salivarnih i plazmatskih koncentracija IL-1beta, IL 18 i IL 6 već u razlici između dva sukcesivna merenja (La Fratta 2018). Ovaj podatak ukazuje na mogućnost upotrebe razlike u koncentraciji markera inflamacije kod pretećeg prevremenog porođaja ukoliko postoji mogućnost višestrukog merenja.

Iako su i u prevremenom porođaju i u porođju u terminu angažovani isti citokini, razlika u njihovim međusobnim odnosima je u saglasnosti sa genskim istraživanjima Gomez-Lopez-a i saradnika čiji rezultati ukazuju da su različiti mehanizmi uključeni u fiziološkom i prevremenom porođaju (Gomez-Lopez N 2017).

U našem istraživanju nije postojala korelacija između salivarnih i plazmatskih koncentracija IL 6 ni u grupi prevremeno porođenih i u grupi žena porođenih u terminu što je u saglasnosti sa radovima Cullen-a i saradnika koji nisu ustanovili korelaciju između nivoa IL 6 u krvi i salivi ni u miru ni nakon izlaganja fizičkoj aktivnosti (Cullen T 2015).

U našem istraživanju salivarne vrednosti inflamatornih medijatora su višestruko veće od plazmatskih koncentracija što je u saglasnosti sa radovima La Fratta i saradnika koji navode da koncentracija IL-6 može biti 20 i više puta veća u salivi nego u plazmi (La Fratta I 2018).

IL1 beta kod non sekretora pokazuje veće vrednosti i u salivi i u plazmi, međutim, to nije dostiglo statističku značajnost što se može pripisati malom uzorku. Veće vrednosti IL-1beta se mogu objasniti stanjem paradoncijuma budući da u grupi non sekretora nije bilo osobe sa zdravim paradoncijumom. Ovaj nalaz, s jedne strane, potvrđuje tvrdnju Rathnayake-a i saradnika da je vrednost IL1 beta u skladu sa stepenom oboljenja paradoncijuma a s druge strane ukazuje da sekretorni status doprinosi stepenu oboljenja izraženom nivoom IL-1 beta (Rathnayake N 2013).

U našoj ispitivanoj grupi postojala je negativna korelacija između PGE2 godina starosti dok je kod Tarannum F i saradnika zabeležena negativna korelacija između PGE2 i gestacijske starosti. U našem istraživanju je nivo PGE2 je bio najveći u 24 nedelji pokazivao je postepeno niže vrednosti do 35. nedelje gestacije odnosno imao je trend smanjivanja što je saglasnosti sa nalazom Tarannum-a i saradnika (Tarannum F 2011). Nakon toga PGE2 se povećava ka idući ka zrelijim fazama trudnoće. Veća koncentracija kod veoma ranih prevremenih porođaja se može objasniti nedostatkom ostalih komponenti koje doprinose razvoju porođaja kao što su lučenje oksitocina, zatim zrelost ploda koji svojom veličinom i svojim hormonskim uticajem preko HPA osovine stimuše porođaj .

IL1-beta u salivi u grupi žena sa periodontitisom ne pokazuje razliku u odnosu na žene sa zdravim paradoncijum što je u suprotnosti sa rezultatima Tobona i saradnika gde je IL-1b znatno viši kod osoba sa periodontitisom u odnosu na zdravu kontrolu (Tobón-Arroyave SI 2008). Ovo se može objasniti time da su podaci Tobona za opštu populaciju a u našem slučaju se radi o porođenim ženama gde hormoni trudnoće i sam porođaj imaju veliki uticaj na produkciju i nivo medijatora inflamacije (Robinson, P 2015, Oliveira Costa F 2013). Budući da se koncentracije IL1 beta ne razlikuju u gingivitisu i periodontitisu postoji mogućnost da je to genetski detrimisano kao u radovima Kamei i saradnika koji ukazuju da se agresivna forma periodontitisa razvija kod određenih genetskih karakteristika IL1 i IL1 receptora (Kamei H 2014)

U našem istraživanju je IL1 beta u krvi bio statistički viši u grupi PP žena u odnosu na TP grupu što se može objasniti genetski determinisanom inflamatornom

hipersenzitivnošću kao rezultat aktivacije ciklooksigenaze-2 od strane IL-1beta. (Giraldo S 2009). S druge strane povećan nivo IL1 beta u PP grupi može dovesti do PP mehanizmom odbacivanja fetusa kao alografta s obzirom da postoje studije koje ukazuju da su u slučajevima odbacivanja alografta povećani nivoi IL1 beta. Istraživanja pokazuju da IL-1beta povećava anti-graft imuni odgovor aloreaktivnih T limfocita izazivajući inflamaciju posredovanu IL-17 (Rao DA 2007, Wilson, N. J 2007 IL; Acosta-Rodriguez, E. V., 2007). Vamvakopoulos i saradnici su dokazali povezanost IL-1 i hroničnog odbacivanja grafta na genetskom nivou. Izvesne allele IL-1b i receptora za IL-1beta povećavaju rizik za odbacivanje 20 puta (Vamvakopoulos JE 2002, *Ostojić S 2004*).

Jedan od uzroka prevremenog porođaja su hromozomske i genetske abnormalnosti roditelja (Li TC 2002, Gill TJ III 1992, Rubio C 2003). U normalnoj populaciji se hromozomske abnormalnosti sreću u oko 0,2%. Iako su sprovedena brojna istraživanja kako bi se identifikovali uzroci prevremenog porođaja vrlo se malo zna o genskim mehanizmima (Baek KH 2004).

Geni koji utiču na fiziološki tok trudnoće, mogu ispoljiti svoje dejstvo na dva načina. Jedan od mehanizama su monogenske nasledne bolesti, promene koje kvalitativno menjaju fiziološke mehanizme u trudnoći a drugi su genske varijabilnosti u obliku genskih polimorfizama koji kvantitativno menjaju fiziološke mehanizme u trudnoći.

Imunski sistem jedan je od ključnih modulatora trudnoće. Treba upozoriti na moguću važnost genske varijabilnosti brojnih molekula uključenih u taj system koji mogu biti uzrok nepovoljnim ishodima trudnoće. Genske varijacije u regulaciji ekspresije citokina mogu doprineti imunskom sistemu kao i moduliranju majčinog imunskog odgovora tokom normalne trudnoće ali, isto tako i njenom preranom završavanju. Tako su u žena s neobjašnjenim ranim završavanjem trudnoće pronađeni genski polimorfizmi Th1/Th2 citokina TNF-alfa, IFN-gama, TGF-beta, LIF, IL-1, IL-6,

IL-10 i IL-12 (Reid JG, 2001, Prigoshin N 2004, Daher S 2003, Babbage SJ 2001, Wang 2016).

U poslednje vreme posebnu pažnju izaziva proinflamatorni citokin IL-18, snažan stimulator IFN-gama čije je prisustvo tokom trudnoće na mestu implantacije neophodno (Ostojić S, 2003). Rezultati istraživanja upućuju da je za implantaciju, održavanje decidue, modifikaciju krvnih sudova uterusa i njihovu vazodilataciju i preživljavanje fetoplacentne jedinice, naročito važna regulacija aktivnosti uterušnih NK ćelija (od engl. Natural Killer) putem IFN-gama a kao glavni posrednik njihove funkcije smatra se IL-18 (17 Ashkar AA 2000).

Preživljavanje ploda omogućavaju citokini mikrookoline čiji je sastav određen jedinstvenom ekspresijom HLA-antigena klase I na ćelijama trofoblata (Hutter H, 1998 22, Le Bouteiller P 2004, Ober C, 2003).

Tokom normalne trudnoće embrion koji je antigen delimično nepoznat majci, preživi, raste i razvija se, iako se tkivno nepodudarni transplantirani aloantigeni uobičajeno odbacuju imunskim odgovorom domaćina. Ta protivrečnost je delimično rezultat odnosa na fetoplacentarnoj površini gde imunokompetentne ćelije decidue majke dolaze u neposredan kontakt sa HLA (od engl. Human Leukocyte Antigen) antigenima očevog porekla koji se ispoljavaju na ćelijama trofoblata sa fetalne strane fetoplacentarne površine. Ovi procesi za posledicu imaju stvaranje hormona, citokina i drugih medijatora koji pojedinačno ili međusobnim delovanjem regulišu funkciju ćelija na mestu kontakta ćelija majke i ćelija ploda. To je od naročite važnosti tokom implantacije kada je kontrola vaskularizacije jedan od ključnih mehanizama održavanja trudnoće (Ashkar AA 2000).

Recesivni geni koji regulišu rast mogu u izmenjenim okolnostima dovesti do blagih promena na koštanom sistemu pa sve do smrti embriona (Lokki ML 2001, Gill TJ 3rd 1983).

Teoriju o odbacivanju fetusa kao allografta je prvi postavio Medawar pre više od 60 godina objašnjavajući normalan tok trudnoće maternalnom tolerancijom stranog tkiva. Trofoblast i plodovi ovojci takođe predstavljaju alograft (Medawar PB.1953). Majčino prepoznavanje fetalnih aloantigena poreklom od oca dovodi do preusmeravanja imunskog odgovora majke sa celularnog imunog odgovora tipičnog za odbacivanje grafta na humoralni tip, na čemu se i temelji hipoteza imunotrofizma (Wegmann TG 1984).

Ekspresija specifičnih genskih modula inflamazoma omogućava konstitutivnu ekspresiju IL-1beta, povećan oksidativni stress, dolazi do izmenjenog metabolizma nukleotida čime se indukuje hronična inflamacija. Metaboliti nukleotida indukuju produkciju IL-1beta, aktiviraju trombocite i leukocyte (Ganzetti G 2016, Furman D 2017). U skladu sa opisanim procesima u našoj ispitivanoj grupi postoji pozitivna korelacija između leukocita I trombocita.

IL-6 je u našem istraživanju pokazao slične koncentracije u PTB I TB (3.89 vs 2.84 pg/mL) što je u skladu sa nalazima Chmaj-Wierzchowska i saradnika čiji rezultati ukazuju da se nivo inflamatornih medijatora i citokina karakterističnih za porođaj ne razlikuje u PTB I TB i da je mehanizam prevremenog I terminskog porođaja isti(Chmaj-Wierzchowska K 2016). Takođe prema radovima Bamberg-a I saradnika IL6 u amnionskoj tečnosti nije dao statističke razlike između žena sa PTB, eklampsijom i normalne kontrole (Bamberg C 2012)

IL6 u plazmi je, u našem istraživanju dostigao daleko viši nivo nego što je neophodno za normalni porođaj gde prema rezultatima Nergiz Avcioğlu i saradnika nivo IL-6 >0.70 pg/ml ima pozitivnu prediktivnu vrednost 48 sati pre prevremenog porođaja (Nergiz Avcioğlu S 2015).

Plazmatski nivoi IL 1beta i PGE2, su u našoj ispitivanoj grupi sa periodontitisom, bile snačajno više u odnosu na kontrolnu grupu žena porođenih u terminu što je u saglasnosti sa rezultatima Lin-a i saradnika koji su našli povećane

vrednosti IL-1beta, PGE2 i IL6 kod prevremeno porođenih žena i kod žena sa prevremeno rođenom decom male telesne mase (Lin Y 2009). Zhumakanova i saradnici ukazuju da povećane koncentracije IL-1b, IL-6 i TNF-a tokom trudnoće mogu poslužiti kao nespecifični markeri kod žena u riziku za prevremeni porođaj (Zhumakanova 2016).

Prostaglandini su najefikasniji medijatori u dilataciji cerviksa i stimulaciji porođaja. U miometrijumu prostaglandini pojačavaju kontrakcije uterusa, a u cerviksu dovode do razgradnje ekstracelularnog matriksa doprinoseći sazrevanju cerviksa odnosno skraćivanju i dilataciji cerviksa (Peltier 2009).

PGE2 u salivi PP žena je veći u odnosu na TP žene iako nije postigao statističku značajnost što je skladu sa radovima Menona i saradnika gde su koncentracije eikosanoida u amnionskoj tečnosti bile veće kod TP nego kod PP žena (Menon R 2011).

Koncentracije IL1-beta i PGE2 između žena sa periodontitisom, gingivitisom i grupe žena sa zdravim parodontijumom nisu pokazale statistički značajnu razliku što se može objasniti uticajem trudnoće i hormona placente na nivo medijatora inflamacije. U radovima drugih istraživača IL1-beta je značajno viši u oboljenjima parodontijuma i njegova vrednost je u korelaciji sa stepenom oboljenja ali to se ne odnosi na žene u graviditetu ili porođaju (Loos BG 2005, Tobón-Arroyave SI 2008).

U našem radu razlike u koncentraciji CRP između prevremeno porođenih žena i žena porođenih u terminu ne pokazuju statističku značajnost što je u skladu sa rezultatima Michalowicz-a i saradnika kod kojih vrednosti CRP-a trudnica nije bila povezana ni sa težinom novorođenčeta na rođenju ni sa rizikom za prevremeni porođaj (Michalowicz 2009, Teshome 2016). Puchner i saradnici su ustanovili da je u poređenju sa C-reaktivnim proteinom, IL-8 daleko senzitivniji parametar zapaljenja u slučajevima horioamnionitisa i pretećeg prevremenog porođaja (Puchner 2011).

Vrednosti PGE2 u salivi pokazuju niže vrednosti kod porodilja sa zdravim parodontijumom u odnosu na ostale trudnice sa izmenjenim stanjem parodontijuma što

je skladu sa nalazima Gumus-a i saradnika koji u trudnoći bez komplikacija kod trudnica sa zdravim parodontijumom prikazuju niže vrednosti TNF-alfa i PE2 u salivi čak i u odnosu na zdravu populaciju žena van trudnoće (Gumus P 2016).

CRP u krvi ne pokazuje razliku između prevremeno porođenih žena i žena porođenih u terminu što je u skladu sa radovima Michalowicz-a i saradnika koji su našli da nivo CRP nije u korelaciji ni sa telesnom masom novorođenčeta na rođenju ni sa rizikom za prevremeni porođaj (Michalowicz BS 2009). S druge strane istraživanja Ernst-a i saradnika ukazuju da vrednosti CRP-a iznad 25 mg/L utiču na zastoj u rastu fetusa, malu telesnu masu na rođenju i na prevremeni porođaj (Ernst 2011).

U našem istraživanju CRP u krvi, kao protein akutne faze, pokazuje statistički značajno veće koncentracije kod osoba sa gingivitisom, akutnim oboljenjem desni, u odnosu na osobe sa hroničnim periodontitisom i u odnosu na osobe sa zdravim parodontijumom. Gingivitis predstavlja akutno zapaljenje gingiva i u skladu sa tim CRP u krvi kao protein akutne faze pokazuje značajno veće vrednosti (41.1 vs 6.8 mg/L) u odnosu na osobe sa hroničnim periodontalnim procesom ($p < 0.01$). Za razliku od naših rezultata u radovima Podzimek-a i saradnika CRP pokazuje veće vrednosti u hroničnim i agresivnim formama periodontitisa u odnosu na osobe sa gingivitisom (Podzimek 2015).

U grupi prevremeno porođenih žena postoji pozitivna korelacija između koncentracije CRP i vrednosti trombocita $R = 0.318$ $p = 0.017$ kao i između broja leukocita i broja trombocita ($R = 0.329477$, $p = 0.013152$) što znači da sa porastom broja leukocita raste i broj trombocita. Ove korelacije nisu dobijene u grupi žena porođenih u terminu. Korelacija broja trombocita i CRP kao proteina akutne faze je u skladu sa podacima iz literature koji govore u prilog tome da se u inflamatornim procesima javlja trombocitoza (Haran JP 2013).

CRP u salivi ispitivanih trudnica imao je vrednosti ispod granice detektabilnosti metode što je u saglasnosti sa regulacijom sinteze CRP. Za razliku od IL-1b i TNF-alfa

koji se stvaraju lokalno na mestu upalnog procesa, CRP se sintetiše u jetri nakon stimulacije IL-1b i TNF-alfa tako da u pljuvačku dospevaju veoma male količine (Noack B 2001).

U našoj ispitivanoj grupi vrednosti PGE2 i u salivi i u plazmi pokazuju najniže vrednosti kod trudnica sa zdravim parodontijumom. Takođe, salivarne vrednosti TNF-alfa daju najniže vrednosti kod trudnica sa zdravim parodontijumom. Prema radovima Gumus i saradnika u trudnoći bez komplikacija kod trudnica sa zdravim parodontijumom vrednosti TNF-alfa i PGE2 u salivi su niže nego u zdravoj populaciji žena van trudnoće (Gümüş P 2016).

Spoznaja da nasledni faktori mogu uticati na PP je u saglasnosti sa činjenicom da je teža forma periodontitisa pod uticajem sekretornog statusa koji je takođe nasledan i nepromenljiv.

Oligosaharidne strukture krvnih grupa kod sekretora igraju važnu ulogu u adheziji blastociste i u otpornosti na infaziju mikroorganizama. Nedavne studije ukazuju da sekretorni status majke utiče na intrauterinu selekciju embriona. Ovi podaci mogu imati praktičnu upotrebu u proceni rizika neplodnosti i povećanju uspešnosti asistiranih reproduktivnih tehnika (Gloria-Bottini F 2011).

Pored toga sekretorni oligosaharidi 2'-fukozilirani glikani su nađeni u mleku majki sekretora koji štite novorođenče od patogena i igraju važnu ulogu u razvoju imunskog sistema neonatusa. Kod prevremeno rođene dece oligosaharidi majčinog mleka pokazuju protektivni efekat na nezrelost digestivnog trakta deteta i na neki način maskiraju nezrelost novorođenčeta. Nedostatak krvnogrupnih oligosaharida povećava 10 puta rizik za smrtni ishod usled enterokolitisa (Lewis ZT 2015).

U našem istraživanju procenat non-sekretora u grupi sa periodontitisom je bio znatno veći nego u grupi sa zdravim parodontijumom što je u skladu sa tvrdnjom Jaboob i saradnika čija istraživanja ukazuju da non-sekretori imaju niži nivo

izohemaglutinina i zbog toga slabiju otpornost na infekciju I u skladu sa tim veću stopu periodontitisa (Jaboob NS 2015). Radovi Rai i saradnika ukazuju da se, odsustvo krvnogrupnih supstanci u pljuvački non-sekretora, može smatrati riziko faktorom za razvoj malignih lezija u usnoj duplji (Rai 2015). Resultati Rocha saradnika ukazuju na aktivnu ulogu glikoproteina mucina pljuvačke u regulaciji prirodnog imunog odgovora na periodontalnu bakterijsku kolonizaciju i progresiju bolesti (Rocha 2012).

U našoj grupi sa periodontitisom bilo je 31.0% non-sekretora što je nešto više u odnosu na podatke koji je dao Tabasum gde su non-sekretori u grupi sa periodontitisom zastupljeni sa 22.2%. Ova razlika se može objasniti uticajem koji trudnoćai i hormoni placente imaju na biološka svojstva periodontalnih tkiva i na patofiziološki tok periodontalne infekcije u trudnoći (Tabasum ST, 2011, Agueda 2008).

Istraživanja ukazuju na povezanost non-sekretora i Crohn-ove bolesti gde postoji abnormalni imuni odgovor na intestinalnu mikrofloru. U skladu sa tim, rezultati naše studije se mogu objasniti pojačanim imunim odgovorom na izmenjenu kolonizaciju kod non-sekretora u slučajevima prevremenog porođaja.

Rezultati ove studije pokazuju da je broj trombocita statistički značajno niži ($p=0.04$) kod non-sekretora u odnosu na sekrete što je u skladu sa radovima drugih istraživača koji ukazuje da je kod non-sekretora aktivirani hemostatski process koji smanjuje broj trombocita usled potrošnje (Clark P 2005).

Povezanost krvnih grupa i raznih oboljenja je predmet istraživanja mnogih studija (Rai P 2015). Tako je ispitivana prijemčivost za razne infektivne agense u odnosu na krvne grupe. Među njima su *Helicobacter pillory*, *E.coli* i mnoge druge. U odnosu na krvnogrupnu pripadnost analizirani si i proinflamatorni medijatori kao što su IL-6, receptor za IL-6, TNF-alfa, receptor za TNF-alfa. Krvna grupa A se, prema istraživanjima Qi-a i saradnika karakteriše višim vrednostima solubilnog intercelularnog adhezionog molekula (sICAM) i višim nivoom receptora za TNF-alfa 2

((TNF-R2) u odnosu na ostale krvne grupe (Qi L 2010) . U našem istraživanju nivo ispitivanih proinflamatornih citokina pokazuje razliku u odnosu na krvnogrupnu pripadnost u ABO sistemu, međutim, razlika nije dostigla statističku značajnost što je u skladu sa radovima Blackwell-a i saradnika nisu našli sifnifikantnu razliku u nivou IL6 i TNF-alfa u odnosu na krvnu grupu ABO sistema (Blackwell CC 2002). Rezultati Alkout-a i saradnika ukazuju da leukociti O krvne grupe u jačoj meri vežu bakterije i u skladu sa tim oslobađaju više IL-6 i TNF-alfa nego leukociti ostalih krvnih grupa. Povećane vrednosti IL-6 i TNF-alfa se mogu objasniti činjenicom da su Alkout i saradnici merili nivoe inflamatornih citokina oslobođenih iz leukocita nakon reagovanja sa bakterijama (Alkout 2010, AlkoutAM 2000). Kod Qi-a i saradnika O krvna grupa je pokazala veću prijemčivost za bakterije ali ne i veću produkcija IL-6 i TNF-alfa (Qi L 2010) . U našem istraživanju najniže vrednosti IL-6 i TNF-alfa su zapažene kod osoba O-te krvne grupe.

U našoj ispitivanoj grupi zastupljenost gingivitisa i periodontitisa se nije razlikovala ..u odnosu na krvne grupe ABO sistema. Radovi Rai i sardnika ukazuju da su promene u usnoj duplji posebno one sa malignim potencijalom mnogo češće kod osoba A krvne grupe u odnosu na O, B i AB krvnu grupu (Rai P 2015).

U našem istraživanju bilo je 9 dece malo za gestacionu starost među majkama sekretorima a nijedno među non-sekretorima, međutim razlika nije dostigla statističku značajnost (p=0.23)

Rezultati Clark-a i saradnika ukazuju da je zastoje u rastu znatno češći kod majki sekretora (OR 1.70), međutim, iako je u našem istraživanju, među sekretorima bilo 9 dece malo za gestacionu starost razlika u odnosu na non-sekretore nije pokazala statističku značajnost. Jedan od razloga je relativno mali broj majki non-sekretora (Clark P 2011).

6. ZAKLJUČCI

- U grupi prevremeno porođenih žena bilo je znatno više žena sa periodontitisom u odnosu na kontrolnu grupu žena porođenih u terminu (66.1% vs 12.5%)
- Grupa prevremeno porođenih žena i kontrolna grupa žena porođenih u terminu ne pokazuju razliku u odnosu na krnogrupnu pripadnost
- U grupi žena non-sekretora prevremeno porođenih bilo je sa periodontitisom 83.3% žena dok je u grupi terminski porođenih žena non-sekretora bilo 33% žena sa periodontitisom . U grupi prevremeno porođenih žena non-sekretora nije bilo ni jedne sa zdravim parodontijumom
- Medijatori inflamacije i u salivi i u plazmi su značajno viši u grupi prevremeno porođenih žena u odnosu na žene porođene u terminu
- Medijatori inflamacije su znatno viši kod žena sa periodontitisom u odnosu na žene bez periodontitisa.
- Koncentracija IL-1beta je pokazivala najviše vrednosti u grupi prevremeno porođenih žena non-sekretora sa parodontitisom
- Salivarnie i plazmatske koncentracije medijatora ne pokazuju međusobnu korelaciju ni kod žena porođenih u terminu ni kod prevremeno porođenih žena osim TNF-alfa koji u grupi žena porođenih u terminu koji pokazuje pozitivnu korelaciju između koncentracija u plazmi i salivi
- Korelacije ispitivanih markera inflamacije se razlikuju između grupe prevremeno porođenih žena i žena porođenih u terminu. Kod prevremeno porođenih žena postoji značajna korelacija između koncentracije sPGE2 i IL-1b i u plazmi i u salivi, pl IL-1b i plTNF α , sal IL6 i sal TNF α , pl IL-6 i sal PGE2. Kod žena porođenih u terminu postoji korelacija između pl TNF α i plPGE2, pl IL-6 i sal TNF α , pl IL-6 i pl PGE2, sal IL-6 i salPGE2, sal IL-6 i pl PGE2.

- U grupi prevremeno porođenih žena bilo je statistički značajno više dece muškog pola (57.2 % vs 39.3%) u odnosu na grupu žena porođenih u terminu. Apgar skor i telesna masa novorođenčadi su u grupi prevremeno porođenih bili znatno niži u odnosu na grupu porođenih u terminu. U grupi prevremeno porođenih bilo je znatno više dece ispod 10 percentila u odnosu na grupu porođenih u terminu

Naše istraživanje pokazuje da non-sekretori u kombinaciji sa inflamatornim parodontalnim oboljenjem i panelom biohemijskih medijatora inflamacije predstavljaju rizične faktore za prevremeni porođaj.

Saliva, prema našem istraživanju, ima potencijalno dijagnostičku ulogu jer je lako dostupan biološki material i pri tome su salivarne vrednosti medijatora inflamacije višestruko veće od plazmatskih.

Isptivanje inflamatornih i drugih markera u salivi pruža nov pristup i mogućnost dijagnostikovanja različitih sistemskih poremećaja i stanja a, takođe, i mogućnost epidemioloških istraživanja. Pri tome, korišćenje salive u budućim istraživanjima prevremenog porođaja može dati korisne informacije o tome kako promene u koncentraciji markera inflamacije ukazuju na prevremeni porođaj.

Do sada još nije otkriven jedan jedinstveni biomarker koji bi predstavljao pouzdan prediktivni test za spontani prevremeni porođaj kod žena sa jednostrukom trudnoćom i bez simptoma koji bi ukazivali na porođaj. Zbog toga se, u cilju prepoznavanja rizika za prevremeni porođaj, predlaže više markera i kombinacija više nezavisnih markera

Uprkos nagomilanom znanju, analizi pojedinačnih etioloških faktora i njihovom međusobnom uticaju, patofiziologija prevremenog porođaja ostaje nerazjašnjena i za dve trećine prevremenih porođaja, još uvek, se ne može naći adekvatno biološko objašnjenje. Nadamo se da će buduća istraživanja na polju genomike i proteomike dodatno razjasniti povezanost parodontopatije, sekretornog statusa i prevremenog porođaja.

7. Literatura:

1. Acosta-Rodriguez EV, Rivino L, Geginat J, Jarrossay D, Gattorno M, Lanzavecchia A, Sallusto F, Napolitani G. Surface phenotype and antigenic specificity of human interleukin 17-producing T helper memory cells. *Nat Immunol.* 2007 Jun;8(6):639-46.
2. Agueda, A., Ramon, J. M., Manau, C., Guerrero, A., Echeverria, J. J. Periodontal disease as a risk factor for adverse pregnancy outcomes, *J Clin Periodontol.* 2008; 35(1):16-22.
3. Alkout AM, Blackwell CC, Weir DM. Increased inflammatory responses of persons of blood group O to *Helicobacter pylori*. *J Infect Dis.* 2000;181(4):1364-9.
4. Andrews WW, Hauth JC, Goldenberg RL. Infection and preterm birth. *Am J Perinatol.* 2000;17(7):357-65.
5. Andrukhov O, Ulm C, Reischl H, Nguyen PQ, Matejka M, Rausch-Fan X. Serum cytokine levels in periodontitis patients in relation to the bacterial load," *Journal of Periodontology*, 2011;82(6):885–892.
6. Armitage GC. Bi-directional relationship between pregnancy and periodontal disease. *Periodontology* 2000, Vol. 61, 2013, 160–176.
7. Armitage GC. Periodontal disease and pregnancy: discussion, conclusions and recommendations. *Annals of Periodontology* 2001; 6(1):189-192.
8. Armitage, G C. Periodontal diseases: diagnosis. *Annals of Periodontology* 1996; 1(1):37-195.

9. Ashkar AA, Di Santo JP, Croy BA. Interferon gamma contributes to initiation of uterine vascular modification, decidual integrity, and uterine natural killer cell maturation during normal murine pregnancy. *J Exp Med* 2000; 192:259–70.
10. Assinger A, Laky M, Volf I. Platelet TLR/PI3K/AKT signaling augments clearance of periodontal bacteria, basic and clinical research for our patients of all ages and in all situation, 1st Symposium GTH&NVTH, Nurnberg, Feb 24.27, 2010, SY04-04, *Hamostaseology* 2010;1
11. Assinger A, Laky M, Badrnya S, Esfandeyari A, Volf I. Periodontopathogens induce expression of CD40L on human platelets via TLR2 and TLR4. *Thromb Res.* 2012;130(3):e73-8. 16.
12. Assinger A, Laky M, Schabbauer G, Hirschl AM, Buchberger E, Binder BR, Volf I. Efficient phagocytosis of periodontopathogens by neutrophils requires plasma factors, platelets and TLR2. *J Thromb Haemost.* 2011;9(4):799-809.
13. Babbage SJ, Arkwright PD, Vince GS, Perrey C, Pravica V, Quenby S et al. Cytokine promoter gene polymorphisms and idiopathic recurrent pregnancy loss. *J Reprod Immunol* 2001; 51:21-7.
14. Baek KH. Aberrant gene expression associated with recurrent pregnancy loss. *Mol Hum Reprod.* 2004; 10:291-7.
15. Bamberg C, Fotopoulou C, Thiem D, Roehr CC, Dudenhausen JW, Kalache KD. Correlation of midtrimester amniotic fluid cytokine concentrations with adverse pregnancy outcome in terms of spontaneous abortion, preterm birth, and preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012;25(6):812-7.
16. Bansal T, Dhruvakumar D, Pandey A. Comparative evaluation of C-reactive protein in peripheral blood of patients with healthy gingiva, gingivitis and

- chronic periodontitis: A clinical and particle-enhanced turbidimetric immuno-analysis. *J Indian Soc Periodontol*. 2014 Nov-Dec;18(6):739-43.
17. Bansal T, Pandey A, D D, Asthana AK. C-Reactive Protein (CRP) and its Association with Periodontal Disease: A Brief Review. *J Clin Diagn Res*. 2014 Jul;8(7):ZE21-4.
 18. Beck S, Wojdyla D, Say L, Betran AP, Merialdi M, Requejo JH, Rubens C, Menon R, Van Look PF. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bull World Health Organ*. 2010; 88(1):31-8.
 19. Bernstein BE, Kamal M, Lindblad-Toh K, Bekiranov S, Bailey DK, Huebert DJ et al. Genomic maps and comparative analysis of histone modifications in human and mouse. *Cell*. 2005;120:169-181.
 20. 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* 2009;80, 874–881.
 21. Blackwell CC, Dundas S, James VS, Mackenzie DA, Braun JM, Alkout AM, Todd WT, Elton RA, Weir DM. Blood group and susceptibility to disease caused by *Escherichia coli* O157. *J Infect Dis*. 2002;185(3):393-6.
 22. Blencowe H, Cousens S, Chou D, Oestergaard M, Say L, Moller AB, Kinney M, Lawn J. Born too soon: the global epidemiology of 15 million preterm births. *Reprod Health* 2013;10(Suppl 1):S2. doi:10.1186/1742-4755-10-S1-S2
 23. Bloomfield FH. How is Maternal Nutrition Related to Preterm Birth? *Annu Rev Nutr*. 2011;31:235-61.

24. Boggess KA, Moss K, Madianos P, Murtha AP, Beck J, Offenbacher S. Fetal immune response to oral pathogens and risk of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2005; 193(2):1121-6.
25. Boivin A, Luo ZC, Audibert F, Mâsse B, Lefebvre F, Tessier R, Nuyt AM. Risk for Preterm and Very Preterm Delivery in Women Who Were Born Preterm, *Obstet Gynecol.* 2015;125(5):1177-84.
26. Borissoff JJ, ten Cate H. From neutrophil extracellular traps release to thrombosis: an overshooting host-defense mechanism? *J Thromb Haemost.* 2011 Sep;9(9):1791-4
27. Bošnjak A, Relja T, Vučićević-Boras V, Plasaj H, Plančak D. Pre-term delivery and periodontal disease: a case-control study from Croatia, *J Clin Periodontol* 2006; 33: 710-716.
28. Brouwer A, Groenendaal F, van Haastert IL, Rademaker K, Hanlo P, de Vries L. Neurodevelopmental outcome of preterm infants with severe intraventricular hemorrhage and therapy for post-hemorrhagic ventricular dilatation. *J Pediatr.* 2008;152(5):648-54.
29. Buduneli N, Baylas H, Buduneli E, Turkoglu O, Kose T, Dahlen. Periodontal infections and preterm low birth weight: a case-control study, *J Clin Periodontol* 2005;32:174-181.
30. Campi C, Escovich L, Moreno A, Racca L, Racca A, Cotorruelo C, Biondi C. Expression of the gene encoding secretor type galactoside 2 α fucosyltransferase (FUT2) and ABH antigens in patients with oral lesions. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2012;17(1):e63-8.
31. Carlson SE, Colombo J, Gajewski BJ, Gustafson KM, Mundy D, Yeast J et al. DHA supplementation and pregnancy outcomes. *Am J Clin Nutr* 2013; 97: 808–15.

32. Chaemsaitong P, Romero R, Korzeniewski SJ, Dong Z, Yeo L, Hassan SS, Kim YM, Yoon BH, Chaiworapongsa T. A point of care test for the determination of amniotic fluid interleukin-6 and the chemokine CXCL-10/IP-10. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015;28 (13):1510-9.
33. Challis J, Newnham J, Petraglia F, Yeganegi M, Bocking A. Fetal sex and preterm birth. *Placenta.* 2013;34(2):95-9.
34. Chang HH, Larson J, Blencowe H, Spong CY, Howson CP, Cairns-Smith S, et al. Preventing preterm births: analysis of trends and potential reductions with interventions in 39 countries with very high human development index. *Lancet.* 2013;381: 223–234.
35. Chen GY, Nunez G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. *Nat Rev Immunol* 2010; 10:826-837.
36. Chmaj-Wierzchowska K, Olejniczak T, Tuzel J, Niepsuj-Biniaś J, Kaczorowska I, Samara H, et al. Threatened preterm labour – Analysis of the cytokine profile and progesterone treatment efficiency. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016; 6:1-13
37. Chukkapalli SS, Rivera MF, Velsko IM, Lee JY, Chen H, Zheng D, Bhattacharyya I, Gangula PR, Lucas AR, Kesavalu L. Invasion of oral and aortic tissues by oral spirochete *Treponema denticola* in ApoE(-/-) mice causally links periodontal disease and atherosclerosis. *Infect Immun.* 2014 May;82(5):1959-67.
38. Chukkapalli SS, Rivera-Kweh MF, Velsko IM, Chen H, Zheng D, Bhattacharyya I et al. Gangula PR, Lucas AR, Kesavalu L. Chronic oral infection with major periodontal bacteria *Tannerella forsythia* modulates systemic atherosclerosis risk factors and inflammatory markers, *Pathog Dis.* 2015;73(3). pii: ftv009. doi: 10.1093/femspd/ftv009

39. Clark P, Meiklejohn DJ, O'Sullivan A, Vickers MA, Greaves M. The relationships of ABO, Lewis and Secretor blood groups with cerebral ischaemia of arterial origin. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 2105–8.
40. Clark P, Greer IA: The influence of maternal Lewis, Secretor and ABO(H) blood groups on fetal growth restriction. *J thrombosis and haemostasis. J Thromb Haemost.* 2011;9(12):2411-5.
41. Clyman RI. NEC and death in preterm: Do secretors hold the secret? *J Pediatr* 2011;158(5):0, PMID 21482236
42. Cullen T, Thomas AW, Webb R, Hughes MG. The relationship between interleukin-6 in saliva, venous and capillary plasma, at rest and in response to exercise. *Cytokine.* 2015; 71(2):397-400.
43. Daher S, Shulzhenko N, Morgun A, Mattar R, Rampim GF, Camano L et al. Associations between cytokine gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss. *J Reprod Immunol* 2003; 58:69-77.
44. Dav'e S, Van Dyke TE. The link between periodontal disease and cardiovascular disease is probably inflammation, *Oral Diseases*, 2008;14(2):95–101.
45. Davenport RD, Strieter RM, Kunkel SL Red cell ABO incompatibility and production of tumour necrosis factor-alpha. *Br J Haematol* 1991;78(4):540-4.
46. Dinarello CA. Anti-inflammatory agents: present and future. *Cell* 2010;140(6): 935–50.
47. Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 1996;87(6): 2095–14.

48. Dolan SM, Hollegaard MV, Merialdi M, Betran AP, Allen T, Abelow C, et al. Synopsis of preterm birth genetic association studies: the preterm birth genetics knowledge base (PTBGene). *Public Health Genomics* 2010; 13:514–23.
49. Dörtbudak O, Eberhardt R, Ulm M, Persson GR. Periodontitis, a marker of risk in pregnancy for preterm birth. *J Clin Periodontol.* 2005;32(1):45-52.
50. Dudley DJ, Trautman MS, Araneo BA, Edwin SS, Mitchell MD. Decidual cell biosynthesis of interleukin-6: regulation by inflammatory cytokines. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992 Apr;74(4):884-9.
51. Dulay AT, Buhimschi IA, Zhao G, Bahtiyar MO, Thung SF, Cackovic M, Buhimschi CS. Compartmentalization of acute phase reactants Interleukin-6, C-Reactive Protein and Procalcitonin as biomarkers of intra-amniotic infection and chorioamnionitis. *Cytokine.* 2015;76(2):236-43.
52. Elovitz MA, Saunders T, Ascher-Landsberg J, Phillippe M. Effects of thrombin on myometrial contractions in vitro and in vivo. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:799-804.
53. Ernst GDS, de Jonge LL, Hofman A, et al. C-reactive protein levels in early pregnancy, fetal growth patterns, and the risk for neonatal complications: the Generation R Study. *Am J Obstet Gynecol* 2011;205:132.e1-8.
54. Ferrero DM, Larson J, Jacobsson B, Di Renzo GC, Norman JE, Martin JN Jr et al. Cross-Country Individual Participant Analysis of 4.1 Million Singleton Births in 5 Countries with Very High Human Development Index Confirms Known Associations but Provides No Biologic Explanation for 2/3 of All Preterm Births, *PLoS One.* 2016; 11(9): e0162506.
55. Furman D, Chang J, Lartigue L, Bolen CR, Haddad F, Gaudilliere B et al. Expression of specific inflammasome gene modules stratifies older individuals

- into two extreme clinical and immunological states. *Nat Med*. 2017 Feb;23(2):174-184.
56. Gabriel ML, Braga FB, Cardoso MR, Lopes AC, Piatto VB, Souza AS. The association between pro- and anti-inflammatory cytokine polymorphisms and periventricular leukomalacia in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Inflamm Res*. 2016;9:59-67.
57. Ganzetti G, Campanati A, Santarelli A, Sartini D, Molinelli E, Brisigotti V, et al. Salivary interleukin-1 β : Oral inflammatory biomarker in patients with psoriasis. *J Int Med Res*. 2016;44(1 suppl):10-14.
58. Georgiou HM, Di QuinzioMKW, Permezel M, Brennecke SP. Predicting Preterm Labour: Current Status and Future Prospects, Disease Markers 2015 (2015), Article ID 435014, 9 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/435014> Review Article
59. Giannobile WV, Beikler T, Kinney JS, Ramseier CA, Morelli T, Wong DT. Saliva as a diagnostic tool for periodontal disease: current state and future directions. *Periodontol 2000*. 2009;50:52-64.
60. Gibb W, Challis JRG. Mechanisms of term and preterm labor. *J Obstet Gynecol Can*. 24:874-883 (2002)
61. Gibbs RS, Romero R, Hiller SH, Eschenbach DA, Sweet R. A review of premature birth and subclinical infection. *Am J Obstet Gynecol*-1992;166(5):1515-1528
62. Gill TJ III. Reproductive immunology; a personal view. *AJRI* 1992; 27:87-8
63. Giraldo S, Sanchez J, Felty Q, Roy D. IL1B (interleukin 1, β), *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol*. 2009;13(4):273-275

64. Gloria-Bottini F, Magrini A, Cozzoli E, Neri A, Pietroiusti A, Amante A, Bottini E: ABH secretor genetic polymorphism: evidence of intrauterine selection. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011;154(1):20-3.
65. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med.* 2000;342(20):1500-7.
66. Gomez-Lopez N, Romero R, Plazyo O, Schwenkel G, Garcia-Flores V, Unkel R. et al. Preterm labor in the absence of acute histologic chorioamnionitis is characterized by cellular senescence of the chorioamniotic membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;217(5):592.e1-592.e17. doi: 10.1016/j.ajog.2017.08.008. Epub 2017 Aug 25.
67. Govindaraju, P., Venugopal, S., Shivakumar, M. A., Sethuraman, S., Ramaiah, S. K., & Mukundan, S. Maternal periodontal disease and preterm birth: A case-control study, *J Indian Soc Periodontol.* 2015;19(5): 512–515.
68. Gümüş P, Öztürk VÖ, Bozkurt E, Emingil G. Evaluation of the gingival inflammation in pregnancy and postpartum via 25-hydroxy-vitamin D3, prostaglandin E2 and TNF- α levels in saliva. *Arch Oral Biol.* 2016;63:1-6.
69. Gunput ST, Ligtenberg AJ, Terlouw B, Brouwer M , Veerman EC , Wouters D . Complement activation by salivary agglutinin is secretor status dependent. *Biol Chem* 2015; 396: 35–43.
70. Gunput ST, Wouters D, Nazmi K, Cukkemane N, Brouwer M, Veerman EC, Ligtenberg AJ. Salivary agglutinin is the major component in human saliva that modulates the lectin pathway of the complement system. *Innate Immun.* 2016;22(4):257-65.
71. Gyomory S, Lye SJ, Gibb W, Challis JR. Fetal-to-maternal progression of prostaglandin H(2) synthase-2 expression in ovine intrauterine tissues during the course of labor. *Biol Reprod.* 2000 Mar;62(3):797-805.

72. Haran JP, Beaudoin FL, Suner S, Lu S. C-reactive protein as predictor of bacterial infection among patients with an influenza-like illness. *Am J Emerg Med.* 2013;31(1):137-44.
73. Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J.* 1990;265(3):621-36.
74. Helmer H, Tretzmüller U, Brunbauer M, Kaider A, Husslein P, Knöfler M. Production of oxytocin receptor and cytokines in primary uterine smooth muscle cells cultivated under inflammatory conditions. *J Soc Gynecol Investig.* 2002;9(1):15-21.
75. Hernández-Rodríguez J, Segarra M, Vilardell C, Sánchez M, García-Martínez A, Esteban MJ et al. Tissue production of pro-inflammatory cytokines (IL-1beta, TNFalpha and IL-6) correlates with the intensity of the systemic inflammatory response and with corticosteroid requirements in giant-cell arteritis. *Rheumatology (Oxford).* 2004 Mar;43(3):294-301.
76. Hill JA. Immunological mechanisms of pregnancy maintenance and failure: A critique of theories and therapy. *AJRI* 1990; 22:33-41.
77. Hitti J, Terczy-Hornoch P, Murphy J, Hillier SL, Aura J, Eschenbach DA. Amniotic fluid infection, cytokines, and adverse outcome among infants at 34 weeks' gestation or less. *Obstet Gynecol* 2001;98:1080-1088
78. Huck O, Tenenbaum H, Davideau JL, Relationship between Periodontal Diseases and Preterm Birth: Recent Epidemiological and Biological Data, *Journal of Pregnancy*, vol. 2011, Article ID 164654, 8 pages, 2011. doi:10.1155/2011/164654
79. Hutter H, Hammer A, Dohr G, Hunt JS. HLA expression at the maternal-fetal interface. *Dev Immunol* 1998; 6:197-204. 22.

80. Ioannidou E, Shaqman M, Bureson J, Dongari-Bagtzoglou A. Periodontitis case definition affects the association with renal function in kidney transplant recipients, *Oral Dis* 2010; 16(7):636-642.
81. Jaboob NS, Al Harthy AA, Joshi SR. Evidence for an influence of secretor status on levels of the ABO-isoantibodies in serum. *Asian J Transfus Sci.* 2015;9(2): 218.
82. Jarjoura K, Devine PC, Prez-Delboy A, Herrera-Abreu M, D'Alton M, Papapanou PN. Markers of periodontal infection and preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192 (2):513-519.
83. Kamei H, Ishihara Y, Fuma D, Niwa T, Kamiya Y, Yokoi T, et al. Interleukin-1 receptor gene variants are associated with aggressive periodontitis in the Japanese. *Arch Oral Biol.* 2014;59(7):756-63.
84. Kedzierska-Markowicz A, Krekora M, Biesiada L, Głowacka E, Krasomski G. Evaluation of the correlation between IL-1 β , IL-8, IFN- γ cytokine concentration in cervico-vaginal fluid and the risk of preterm delivery. *Ginekol Pol.* 2015 Nov;86(11):821-6.
85. Khalesi N, Shariat M, Fallahi M, Rostamian G. Evaluation of risk factors for retinopathy in preterm infant: a case-control study in a referral hospital in Iran. *Minerva Pediatr.* 2015 Jun;67(3):231-7.
86. Kinney JS, Morelli T, Braun T, Ramseier CA, Herr AE, et al. Saliva/ pathogen biomarker signatures and periodontal disease progression. *J Dent Res*, 2011;90: 752–758.
87. Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood.* 1989; 74(1):1-10.
88. Kouskouti, A, Talianidis I. Histone modifications defining active genes persist after transcriptional and mitotic inactivation. *EMBO J.* 2005; 24:347-357.

89. Kuper SG, Abramovici AR, Jauk VC, Harper LM, Biggio JR, Tita AT, The effect of omega-3 supplementation on pregnancy outcomes by smoking status, *American Journal of Obstet & Gynec* 2017; doi: 10.1016/j.ajog.2017.05.033
90. La Fratta I, Tatangelo R, Campagna G, Rizzuto A, Franceschelli S, Ferrone A et al. The plasmatic and salivary levels of IL-1 β , IL-18 and IL-6 are associated to emotional difference during stress in young male. *Sci Rep.* 2018 Feb 14;8(1):3031. doi: 10.1038/s41598-018-21474-y.
91. Lawn JE, Kinney MV, Black RE, Pitt C, Cousens S, Kerber K, Corbett E, Moran AC, Morrissey CS, Oestergaard MZ. Newborn survival: a multi-country analysis of a decade of change. *Health Policy Plan.* 2012 Jul;27 Suppl 3:iii6-28.
92. Le Bouteiller P. The role of HLA-G expression in the embryo during implantation. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2004; 33:S9-12.
93. Lee YH, Wong DT (2009) Saliva: an emerging biofluid for early detection of diseases. *Am J Dent*, 2009;22: 241–248.
94. Lencki SG, Maciulla MB, Eglinton GS. Maternal and umbilical cord serum interleukin levels in preterm labor with clinical chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynecol.* 1994 May;170(5 Pt 1):1345-51.
95. Lettieri L, Vintzileos AM, Rodis JF, Albini SM, Salafia CM. Does "idiopathic" preterm labor resulting in preterm birth exist? *Am J Obstet Gynecol.* 1993 May;168(5):1480-5.
96. Lewis ZT, Totten SM, Smilowitz JT, Popovic M, Parker E, Lemay DG et al. Maternal fucosyltransferase 2 status affects the gut bifidobacterial communities of breastfed infants. *Microbiome.* 2015;;3:13. doi:10.1186/s40168-015-0071-z

97. Li TC, Makris M, Tomsu M, Tuckerman E, Laird S. Recurrent miscarriage: aetiology, management and prognosis. *Human Reproduction Update* 2002; 8:463-81.
98. Limei Li, Zhaoliang Fei, Jianke Ren, Ruilin Sun, Zhihui Liu, Zhejin Sheng, Long Wang, Xia Sun, Jun Yu, Zhugang Wang, Jian Fei. Functional imaging of interleukin 1 beta expression in inflammatory process using bioluminescence imaging in transgenic mice, *BMC Immunology* 2008;9:49.
99. Lin HY, Yang Q, Wang HM, Qi JG, Zhang H, Wang HX, Tsang BK, Zhu C. Involvement of SMAD4, but not of SMAD2, in transforming growth factor-beta1-induced trophoblast expression of matrix metalloproteinase-2. *Front Biosci.* 2006 Jan 1;11:637-46.
100. Lin Y, Tian ZR, Chen HB, Tai BJ, Jiang H, Du MQ. Study on maternal periodontal diseases of the relationships between porphyromonas gingivalis, serum pro-inflammatory mediators and preterm low birth weight. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2009 Dec;27(6):595-8.
101. Lockwood CJ, Paidas M, Krikun G, Koopman LA, Rachael Masch R, Kuczynski E et al. Inflammatory Cytokine and Thrombin Regulation of Interleukin-8 and Intercellular Adhesion Molecule-1 Expression in First Trimester Human Decidua, *The J Clinic Endoc & Metab.* 2005;90 (8):4710–15.
102. Lokki ML, Laitinen T. Role of major histocompatibility complex class III genes in recurrent spontaneous abortions. *Front Biosci* 2001; 6:23-9.
103. Loos BG. Systemic markers of inflammation in periodontitis, *Journal of Periodontology*, 2005;76(11): 2106–2115.
104. Lopez-Castejon G, Brough D. Understanding the mechanism of IL-1b secretion, *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2011;(22):189–195.

105. Madianos PN, Bobetsis YA, Offenbacher S. Adverse pregnancy outcomes (APOs) and periodontal disease: pathogenic mechanisms. *J Periodontol.* 2013; 84(4 Suppl):S170-80.
106. Maisonneuve E. Lifestyle recommendations for prevention of spontaneous preterm birth in asymptomatic pregnant women. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris).* 2016;45(10):1231-1246.
107. Malley CS, Kuylenstierna JCI, Vallack HW, Henze DK, Blencowe H, Ashmore MR. Preterm birth associated with maternal fine particulate matter exposure: A global, regional and national assessment . *Environ Int.* 2017;101:173-182.
108. Mazaki-Tovi S, Romero R, Kusanovic JP, et al. Recurrent Preterm Birth. *Seminars in perinatology.* 2007;31(3):142-158.
109. McAdams RM, Juul SE. The role of cytokines and inflammatory cells in perinatal brain injury. *Neurol Res Int.* 2012;2012:561494. doi: 10.1155/2012/561494.
110. Medawar PB. Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. *Symp Soc Exp Biol.* 1953; 7:320-38.
111. Menon R, Conneely KN, Smith AK. DNA methylation: an epigenetic risk factor in preterm birth. *Reprod Sci.* 2012;19(1):6-13.
112. Menon R, Fortunato SJ, Milne GL, Brou L, Carnevale C, Sanchez SC, Hubbard L, Lappas M, Drobek CO, Taylor RN. Amniotic fluid eicosanoids in preterm and term births: effects of risk factors for spontaneous preterm labor. *Obstet Gynecol.* 2011 Jul;118(1):121-34. doi: 10.1097/AOG.0b013e3182204eaa
PGE2

113. Mercer BM. Preterm premature rupture of the membranes. *Obstet Gynecol* 2003; 101(1):178-93.
114. Michalowicz BS, Hodges JS, DiAngelis AJ, Lupo VR, Novak MJ, Ferguson JE, *et al.* OPT Study. Treatment of periodontal disease and the risk of preterm birth. *N Engl J Med* 2006;355:1885-94
115. Michalowicz BS, Novak MJ, Hodges JS, DiAngelis A, Buchanan W, Papapanou PN, Mitchell DA, Ferguson JE, Lupo V, Bofill J, Matseoane S, Steffen M, Ebersole JL. Serum inflammatory mediators in pregnancy: changes after periodontal treatment and association with pregnancy outcomes. *J Periodontol.* 2009 Nov;80(11):1731-41.
116. Miller CS, King CP Jr, Langub MC, Kryscio RJ, Thomas MV. Salivary biomarkers of existing periodontal disease: a cross-sectional study. *J Am Dent Assoc.* 2006; 137(3):322-9.
117. Miller WD. The human mouth as a focus of infection. *Dent Cosmos.* 1891;33:689–713.
118. Modi BP, Teves ME, Pearson LN, Parikh HI, Haymond-Thornburg H, Tucker JL *et al.* Mutations in fetal genes involved in innate immunity and host defense against microbes increase risk of preterm premature rupture of membranes (PPROM). *Mol Genet Genomic Med.* 2017;5(6):720-729.
119. Moors MA, Mizel SB. Proteasome-mediated regulation of interleukin-1 β turnover and export in human monocytes. *J. Leukoc. Biol.* 2000;68: 131–136.
120. Morrow AL, Meinen-Derr J, Huang P, Schibler KR, Cahill T, Keddache M, Kallapur SG, Newburg DS, Tabangin M, Warner BB, Jiang X. Fucosyltransferase 2 non-secretor and low secretor status predicts severe outcomes in premature infants. *J Pediatr.* 2011;158(5):745-51.

121. Muglia LJ, Katz M. The enigma of spontaneous preterm birth. *N Engl J Med.* 2010; 362(6):529–35.
122. Murtha AP, Sinclair T, Hauser ER, Swamy GK, Herbert WN, Heine RP. Maternal serum cytokines in preterm premature rupture of membranes. *Obstet Gynecol.* 2007;109(1):121-7.
123. Nasir W, Frank M, Koppisetty CA, Larson G, Nyholm PG. Lewis histo-blood group $\alpha 1,3/\alpha 1,4$ fucose residues may both mediate binding to GII.4 noroviruses. *Glycobiology.* 2012; 22(9):1163-72.
124. Nayak AR, Kashyap RS, Kabra D, Purohit HJ, Taori GM, Dagainawala HF. Time course of inflammatory cytokines in acute ischemic stroke patients and their relation to inter-alpha trypsin inhibitor heavy chain 4 and outcome. *Ann Indian Acad Neurol.* 2012 Jul;15(3):181-5.
125. Nayak AR, Kashyap RS, Kabra D, Purohit HJ, Taori GM, Dagainawala HF. Time course of inflammatory cytokines in acute ischemic stroke patients and their relation to inter-alpha trypsin inhibitor heavy chain 4 and outcome.
126. Nergiz Avcioğlu S, Demircan Sezer S, Küçük M, Zafer E, Yüksel H, Akcan B, Turgut O. Maternal serum concentrations of s-Endoglin and IL-6 in pregnancy complicated by preterm premature membrane rupture. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015;25:1-6.
127. Nikolić Lj, Janković Lj, Čakić S, Movsesijan A. Mogući uticaj sekretornog statusa na pojavu i razvoj oboljenja parodonticijuma. *Bilt transf* 1996; 42(1):23-26.
128. Noack B, Genco RJ, Trevisan M, Grossi S, Zambon JJ, Nardin ED. Periodontal infections contribute to elevated systemic C-reactive protein level. *J Periodontol.* 2001;72:1221-27.

129. Nurjadi D, Lependu J, Kremsner PG, Zanger P. Staphylococcus aureus throat carriage is associated with ABO-/secretor status. *J Infect.* 2012;65(4):310-7.
130. Ober C, Aldrich CL, Chervoneva I, Billstrand C, Rahimov F, Gray HL i sur. Variation in the HLA-G promoter region influences miscarriage rates. *Am J Hum Genet* 2003; 72:1425-35.
131. Oliveira Costa F, Soares Dutra Oliveira AM, Miranda Cota LO. Interrelation Between Periodontal Disease and Preterm Birth, In: Preterm Birth, Dr. Offer Erez (Ed.), ISBN: 978-953-51-0952-5, InTech, 2013; 3-39.
132. Olsen SF, Secher NJ. A possible preventive effect of low-dose fish oil on early delivery and pre-eclampsia: indications from o 50-year-old controlled trial. *Br J Nutr* 1990;64:599-609.
133. Ostadrahimi A, Mohammad-Alizadeh S, Mirghafourvand M, Farshbaf-Khalili S, Jafarilar-Agdam N, Farshbaf-Khalili A. The effect of fish oil supplementation on maternal and neonatal outcomes: a triple-blind, randomized controlled trial. *J Perinat Med.* 2017 Dec 20;45(9):1069-1077.
134. Ostojić S, Dubanchet S, Chaouat G, Abdelkarim M, Truyens C, Capron F. Demonstration of the presence of IL-16, IL-17 and IL-18 at the murine fetomaternal interface during murine pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2003; 49:101-12.
135. Park DR, Thomsen AR, Frevert CW, Pham U, Skerrett SJ, Kiener PA et al. Fas (CD95) induces proinflammatory cytokine responses by human monocytes and monocyte-derived macrophages. *J Immunol,* 2003;170(12):6209-16.
136. Pedersen BK. Anti-inflammatory effects of exercise: role in diabetes and cardiovascular disease. *Eur J Clin Invest.* 2017;47(8):600-611.

137. Peelen MJ, Kazemier BM, Ravelli AC, De Groot CJ, Van Der Post JA et al. Impact of fetal gender on the risk of preterm birth, a national cohort study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2016;95(9):1034-41.
138. Peltier MR, Faux DS, Hamblin SD, Silver RM, Esplin MS. Cytokine production by peripheral blood mononuclear cells of women with a history of preterm birth. *J Reprod Immunol.* 2010;84(1):111-6.
139. Peltier MR. Immunology of term and preterm labor. *Reprod Biol Endocrinol.* 2003;1:122.
140. Peltier MR, Faux DS, Hamblin SD, Cooper C, Silver RM, Esplin MS. Effect of aspirin treatment on TNFalpha production by women with a history of preterm birth. *J Reprod Immunol.* 2009;80(1-2):109-14.
141. Petraglia F, Imperatore A, Challis JRG. Neuroendocrine mechanisms in pregnancy and parturition. *Endocr Rev* 2010;31:783e816.
142. Pirhonen J, Sareneva T, Kurimoto M, Julkunen I, Matikainen S. Virus infection activates IL-1 beta and IL-18 production in human macrophages by a caspase-1-dependent pathway. *J Immunol.* 1999;162(12):7322-9.
143. Pizzo G, La Cara M, Conti Nibali M, Guiglia R. Periodontitis and preterm delivery. A review of the literature. *Minerva Stomatol.* 2005;54(1-2):1-14.
144. Plazyo O, Romero R, Unkel R, Balancio A, Mial TN, Xu Y, Dong Z, Hassan SS, Gomez-Lopez N. HMGB1 Induces an Inflammatory Response in the Chorioamniotic Membranes That Is Partially Mediated by the Inflammasome. *Biol Reprod.* 2016; 95(6):130.
145. Podzimek S, Mysak J, Janatova T, Duskova J. C-Reactive Protein in Peripheral Blood of Patients with Chronic and Aggressive Periodontitis,

- Gingivitis, and Gingival Recessions, *Mediators Inflamm* 2015;2015:564858.
doi: 10.1155/2015/564858.
146. Prigoshin N, Tambutti M, Larriba J, Gogorza S, Testa R. Cytokine gene polymorphisms in recurrent pregnancy loss of unknown cause. *AJRI* 2004; 52:36-41.
 147. Puchner K, Iavazzo C, Gourgiotis D, Boutsikou M, Baka S, Hassiakos D et al. Mid-trimester Amniotic Fluid Interleukins (IL-1 β , IL-10 and IL-18) as Possible Predictors of Preterm Delivery, *In Vivo*. 2011;25(1):141-148.
 148. Qi L, Cornelis MC, Kraft P, Jensen M, van Dam RM, Sun Q, Girman CJ, Laurie CC et al. Genetic variants in ABO blood group region, plasma soluble E-selectin levels and risk of type 2 diabetes. *Human Molecular Genetics*. 2010;19(9):1856-1862.
 149. Radnai M, Gorzó I, Nagy E, Urbán E, Novák T, Pál A. A possible association between preterm birth and early periodontitis. A pilot study. *J Clin Periodontol*. 2004;31(9):736-41.
 150. Radwan M, Stiefvater R, Grunert T, Sharif O, Miller I, Marchetti-Deschmann M et al. Tyrosine kinase 2 controls IL-1 β production at the translational level. *J Immunol*. 2010; 185(6):3544-53.
 151. Rai P, Acharya S, Hallikeri K. Assessment of ABO blood grouping and secretor status in the saliva of the patients with oral potentially malignant disorders. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2015; 19(2): 164–169.
 152. Rao DA, Tracey KJ, Pober JS. IL-1alpha and IL-1beta are endogenous mediators linking cell injury to the adaptive alloimmune response. *J Immunol*. 2007; 179 (10):6536-46

153. Rathnayake N, Akerman S, Klinge B, Lundegren N, Jansson H, et al. Salivary biomarkers of oral health - a cross-sectional study. *J Clin Periodontol* 2013;40:140–147.
154. Reid JG, Simpson NAB, Walker RG, Economidou O, Shillito J, Goniou HC et al. The carriage of the pro-inflammatory cytokine gene polymorphisms in recurrent pregnancy loss. *AJRI* 2001; 45:35-40.
155. Riis JL, Out D, Dorn LD, Beal SJ, Denson LA, Pabst S, Jaedicke K, Granger DA. Salivary cytokines in healthy adolescent girls: intercorrelations, stability, and associations with serum cytokines, age, and pubertal stage. *Dev Psychobiol.* 2014;56(4), 797–811.
156. Robinson P, Scherman M. Influence of Pregnancy on the Oral Cavity, In: *Glob. libr. women's med.*, (ISSN: 1756-2228) 2015; DOI 10.3843/GLOWM.10105
157. Rocha D de M, Zenóbio EG, Van Dyke T, Silva KS, Costa FO, Soares RV. Differential expression of salivary glycoproteins in aggressive and chronic periodontitis. *J Appl Oral Sci.* 2012; 20(2):180-5.
158. Romero R, Chaemsaihong P, Docheva N, Korzeniewski SJ, Tarca AL, Bhatti G et al. Clinical chorioamnionitis at term IV: The maternal plasma cytokine profile. *Journal of Perinatal Medicine.* 2016;44(1):77-98.
159. Romero R, Dey SK, Fisher SJ. Preterm labor: one syndrome, many causes. *Science* 2014;345:760-765.
160. Romero R, Grivel JC, Tarca AL, Chaemsaihong P, Xu Z, Fitzgerald W, Hassan SS, Chaiworapongsa T, Margolis L. Evidence of perturbations of the cytokine network in preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 2015; 213:836 e831-836 e818.

161. Romero R, Xu Y, Plazyo O, Chaemsaithong P, Chaiworapongsa T, Unkel R et al. A Role for the Inflammasome in Spontaneous Labor at Term. *Am J Reprod Immunol*. 2016 Mar 8. doi: 10.1111/aji.12440.
162. Romero R, Miranda J, Kusanovic JP, Chaiworapongsa T, Chaemsaithong P, Martinez A et al. Clinical chorioamnionitis at term I: microbiology of the amniotic cavity using cultivation and molecular techniques. *J Perinat Med*. 2015 Jan;43(1):19-36.
163. Rood KM, Buhimschi CS. Genetics, hormonal influences, and preterm birth. *Semin Perinatol*. 2017;41(7):401-408.
164. Roth-Isigkeit A, Hasselbach L, Ocklitz E, Brückner S, Ros A, Gehring H, Schmucker P, Rink L, Seyfarth M. Inter-individual differences in cytokine release in patients undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Clin Exp Immunol*. 2001;125(1):80-8.
165. Rubio C, Simon C, Vidal F, Rodrigo L, Pehlivan T, Remohi J i sur. Chromosomal abnormalities and embryo development in recurrent miscarriage couples. *Human Reproduction* 2003; 18:182-8.
166. Rumbold AR, Crowther CA, Haslam RR, Dekker GA, Robinson JS; ACTS Study Group. Vitamins C and E and the risks of preeclampsia and perinatal complications. *N Engl J Med*. 2006;354(17):1796-806.
167. Saccone G, Berghella V. Omega-3 supplementation to prevent recurrent preterm birth: a systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials. *Am J Obstet Gynecol*. 2015;213(2):135-40.
168. Saini R, Saini S, Saini SR. Periodontitis: A risk for delivery of premature labor and low-birth-weight infants, *J Nat Sci Biol Med*. 2010;1(1): 40–42.

169. Salem H, Yatchenko Y, Anosov M, Rosenfeld T, Altarescu G, Grisaru-Granovsky S, Birk R. Maternal and neonatal irisin precursor gene FNDC5 polymorphism is associated with pretermbirth. *Gene*. 2018;649:58-62.
170. Santos-Pereira SA, Giraldo PC, Saba-Chujfi E et al. Chronic periodontitis and pre-term labour in Brazilian pregnant women: an association to be analysed, *J Clin Periodontol* 2007; 34:208-213
171. Sanz M, Kornman K, and on behalf of working group 3 of the joint EFP/AAP workshop. Periodontitis and adverse pregnancy outcomes: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Clin Periodontol* 2013; 40 (Suppl. 14): S164–S169.
172. Sarno JL, Schatz F, Lockwood CJ, Huang ST, Taylor HS. Thrombin and Interleukin-1 Regulate HOXA10 Expression in Human Term Decidual Cells: Implications for Preterm Labor. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:2366–2372
173. Sata F, Yamada H, Kondo T, Gong Y, Tozaki S, Kobashi G i sur. Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms and the risk of recurrent pregnancy loss. *Mol Hum Reprod* 2003; 9:165-9.
174. Schnaar RL. Glycolipid-mediated cell–cell recognition in inflammation and nerve regeneration. *Arch Biochem Biophys*. 2004;426:163–172.
175. Schummers L, Hutcheon JA, Hacker MR, VanderWeele TJ, Williams PL, McElrath TF, Hernandez-Diaz S. Absolute Risks of Obstetric Outcomes Risks by Maternal Age at First Birth: A Population-based Cohort. *Epidemiology*. 2018;29(3):379-387.
176. Schweikert A, Rau T, Berkholz A, Allera A, Daufeldt S, Wildt L. Association of progesterone receptor polymorphism with recurrent abortions. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004;113:67-72.

177. Shahbakhti H, Watson RE, Azurdia RM, Ferreira CZ, Garmyn M, Rhodes LE: Influence of eicosapentaenoic acid, an omega-3 fatty acid, on ultraviolet-B generation of prostaglandin-E2 and proinflammatory cytokines interleukin-1 beta, tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6 and interleukin-8 in human skin *in vivo*. *Photochem Photobiol.* 2004, 80 (2): 231-2357.
178. Shiozaki A, Yoneda S, Nakabayashi M, Takeda Y, Takeda S, Sugimura M et al. Multiple pregnancy, short cervix, part-time worker, steroid use, low educational level and male fetus are risk factors for preterm birth in Japan: a multicenter, prospective study. *J Obstet Gynaecol Res.* 2014; 40(1):53-61.
179. Smith SEP, Li J, Garbett K, Mirnics K, Patterson PH. Maternal immune activation alters fetal brain development through interleukin-6. *J Neurosci.* 2007;27(40):10695–702.
180. Southerland JH, Taylor GW, Moss K, Beck JD, Offenbacher S. Commonality in chronic inflammatory diseases: periodontitis, diabetes, and coronary artery disease. *Periodontol 2000.* 2006;40:130-43.
181. Stadelmann PF, Eick S, Salvi GE, Surbek D, Mohr S, Bürgin W et al. Increased periodontal inflammation in women with preterm premature rupture of membranes. *Clin Oral Investig.* 2015; 19(6):1537-46.
182. Straka M. Pregnancy and periodontal tissues. *Neuro Endocrinol Lett.* 2011;32(1):34-8.
183. Strauss JF 3rd, Romero R, Gomez-Lopez N, Haymond-Thornburg H, Modi BP, Teves ME et al. Spontaneous preterm birth: advances toward the discovery of genetic predisposition. *Am J Obstet Gynecol.* 2018;218(3):294-314.
184. Suryanegara K, Kawilarang S. Difference of Maternal Serum Interleukin-8 in Preterm Labor and Normal Pregnancy. *Med J Obstet Gynecol* 2017;5(4): 1108.

185. Swamy GK, Østbye T, Skjærven R. Association of Preterm Birth With Long-term survival, Reproduction, and Next-Generation Preterm Birth. *JAMA* 2008;299(12): 1429-1436
186. Tabak LA. In defense of the oral cavity: Structure, biosynthesis, and function of salivary mucins. *Annu Rev Physiol.* 1995;57:547–564.
187. Tabasum ST, Nayak RP. Salivary blood group antigens and microbial flora. *Int J Dent Hyg.* 2011;9(2):117-21.
188. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014 Sep 4;6(10):a016295
189. Tanda N, Ohyama H, Yamakawa M, Ericsson M, Tsuji T, McBride J et al. IL-1 beta and IL-6 in mouse parotid acinar cells: characterization of synthesis, storage, and release. *Am J Physiol.* 1998;274(1 Pt 1):G147-56.
190. Tarannum F, Faizuddin M, Madaiah H. Gingival crevicular fluid prostaglandin E2 level as a predictor of preterm low birth weight: a pilot investigation. *J Oral Sci.* 2011 Sep;53(3):293-300.
191. Terzidou V, Blanks AM, Kim SH, Thornton S, Bennett PR. Labor and inflammation increase the expression of oxytocin receptor in human amnion. *Biol Reprod.* 2011;84(3):546-52.
192. Teshome A, Yitayeh A. Relationship between periodontal disease and preterm low birth weight: systematic review. *Pan Afr Med J.* 2016;24:215. eCollection 2016.
193. Tillett WS, Francis T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus, *J Exp Med.* 1930;52(4):561–71.

194. Tobón-Arroyave SI, Jaramillo-González PE, Isaza-Guzmán DM. Correlation between salivary IL-1beta levels and periodontal clinical status. *Arch Oral Biol.* 2008;53(4):346-52.
195. Tokunou T, Ichiki T, Takeda K, Funakoshi Y, Iino N, Shimokawa H, Egashira K, Takeshita A. Thrombin induces interleukin-6 expression through the cAMP response element in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21(11): 1759-63.
196. Tzouvelekis A, Pneumatikos I, Bouros D. Serum biomarkers in acute respiratory distress syndrome an ailing prognosticator. *Respir Res.* 2005 Jun 22;6:62.
197. Vamvakopoulos JE, Taylor CJ, Green C, McNeil K, Wallwork J, Goodman R, Metcalf SM. Interleukin 1 and chronic rejection: possible genetic links in human heart allografts. *Am J Transplant.* 2002;2(1):76-83.
198. van Klinken BJW, Dekker J, Büller HA, Einerhand AWC. Mucin gene structure and expression: Protection vs. adhesion. *Am J Physiol.* 1995; 269: 613–627.
199. Veerapen MK, Pelaez L, Potter JE, et al. Bridging the Gaps Between the Histopathological and Demographic Risk Factors of Preterm Birth in a Unique Miami Inner-City Population. *Fetal and Pediatric Pathology.* 2014;33(4):226-233.
200. Vieira ACF, Alves CMC, Rodrigues VP, Ribeiro CCC, Gomes-Filho IS, Lopes FF. Oral, systemic and socioeconomic factors associated with preterm birth. *Women Birth.* 2018 Mar 16. pii: S1871-5192(17)30600-5.
201. Villar J, Papageorgiou AT, Knight HE, et al. The preterm birth syndrome: a prototype phenotypic classification. *Am J Obstet Gynecol.* 2012;206:119–123.

202. Wadhwa PD, Culhane JF, Rauh V, Narve SS. Stress and preterm birth: neuroendocrine, immune/inflammatory, and vascular mechanisms. *Matern Child Health J* 2001; 5: 119–25.
203. Wang X, Guo M, Li S, Gong J, Song W, Wang H, Liu S. The Role of the IL-12 polymorphism rs3212227 in preeclampsia in Chinese Han Women. *Clin Exp Hypertens*. 2016;38(4):388-92.
204. Wegmann TG. Fetal protection against abortion: is it immunosuppression or immunostimulation? *Ann Immunol* 1984; 135:309-12.
205. Weng YH, Yang CY, Chiu YW. Neonatal outcomes in relation to sex differences: a national cohort survey in Taiwan. *Biol Sex Differ*. 2015;6:30. doi: 10.1186/s13293-015-0052-8. eCollection 2015.
206. Wilson NJ, Boniface K, Chan JR, McKenzie BS, Blumenschein WM, Mattson JD, et al. Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells. *Nat Immunol*. 2007;8(9):950-7.
207. Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(7):3195-9.
208. Windsor MT, Bailey TG, Perissiou M, Meital L, Golledge J, Russell FD, Askew CD. Cytokine Responses to Acute Exercise in Healthy Older Adults: The Effect of Cardiorespiratory Fitness. *Front Physiol*. 2018 Mar 15;9:203. doi: 10.3389/fphys.2018.00203. eCollection 2018.
209. Wu M, Chen SW, Su WL, Zhu HY, Ouyang SY, Cao YT et al. Sex Hormones Enhance Gingival Inflammation without Affecting IL-1 β and TNF- α in Periodontally Healthy Women during Pregnancy. *Mediators Inflamm*. 2016;2016:4897890. doi: 10.1155/2016/4897890.

210. Xiong X, Buekens P, Vastardis S, Yu SM. Periodontal disease and pregnancy outcomes: state-of-the-science. *Obstet Gynecol Surv.* 2007;62(9):605-15.
211. Yang X, Peng W, Zhu LN, Zhang XA, Wang Y. Association between IL-6 C-572G and susceptibility to spontaneous preterm birth. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi.* 2017;19(7):806-811.
212. Yelland LN, Gajewski BJ, Colombo J, Gibson RA, Makrides M, Carlson SE. Predicting the effect of maternal docosahexaenoic acid (DHA) supplementation to reduce early preterm birth in Australia and the United States using results of within country randomized controlled trials. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2016;112:44-9.
213. Yoon BH, Romero R, Kim CJ, Koo JN, Choe G, Syn HC, Chi JG: High expression of tumor necrosis factor- α and interleukin-6 in periventricular leukomalacia. *Am J Obstet Gynecol* 1997, 177:406-411.
214. Zetterberg H, Regland B, Palmer M, Rymo L, Zafiroopoulos A, Arvanitis DA i sur. The transcobalamin codon 259 polymorphism influences the risk of human spontaneous abortion. *Hum Reprod* 2002; 17:3033-6.
215. Zhou SJ, Best K, Gibson R, McPhee A, Yelland L, Quinlivan J, Makrides M. Study protocol for a randomised controlled trial evaluating the effect of prenatal omega-3 LCPUFA supplementation to reduce the incidence of preterm birth: the ORIP trial. *BMJ Open.* 2017;7(9):e018360.

BIOGRAFIJA AUTORA

Ljubinka Nikolić rođena je 03.09.1958. godine. Nakon završene Gimnazije upisala je Medicinski fakultet u Beogradu školske 1977/1978. godine.

Diplomirala na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu maja 1983. godine.

Specijalistički ispit iz transfuziologije položila je 1993. godine sa odličnim uspehom i stekla zvanje specijaliste transfuziologije.

Septembra 2000.godine dodeljeno joj je zvanje primarijus.

Užu specijalizaciju iz Kliničke transfuziologije završila je 2016. godine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu. Tema rada iz uže specijalizacije bila je **“Trombocitopenije u trudnoći - analiza kliničkih i laboratorijskih parametara”**

Tokom 1987. godine radila je na Institutu za transfuziju krvi Srbije.

U periodu od 1988 do 2001. godine radila je na Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije i Institutu za transfuziju krvi Srbije.

U toku 1998. godine bila je u Minhenu na Klinici Groshadern na obuci za aferezu matičnih ćelija hematopoeze iz periferne krvi u cilju primene kod mijeloablative terapije solidnih tumora.

Od novembra 2001. godine do danas radi na mestu šefa Hematološke laboratorije sa transfuzijom krvi Klinike za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Srbije.

Magistarsku tezu, pri katedri Humane reprodukcije, pod nazivom **"Procena vrednosti pojedinih trofoblastičkih markera u dijagnostici malignih tumora germinativnog epitela testisa"** odbranila je juna 2001. godine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Autor je i koautor oko 80 radova objavljenih u domaćim i stranim časopisima ili saopštenih na kongresima u zemlji i inostranstvu.

Ljubinka Nikolić je član sledećih nacionalnih i internacionalnih stručnih organizacija:

Član Srpskog lekarskog društva, 1984.

Član Transfuziološke sekcije SLD, 1990.

Član Sekcije za kliničku farmakologiju SLD, 2010.

Član Evropskog udruženja medikalnih onkologa (ESMO), 1998.

Član Udruženja za hemostazu i trombozu Srbije

Član ISBT-Internacionalnog udruženja za transfuziju krvi

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Ljubinka Nikolić

broj upisa 29/V-7

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

Inflamatorni odgovor prevremeno porođenih žena sa inflamatornim bolestima
parodoncijuma

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 23.04.2018.



Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Ljubinka Nikolić

Broj upisa 29/V-7

Studijski program _____

Naslov rada Inflamatorni odgovor prevremeno porođenih žena sa inflamatornim
bolestima parodonticijuma

Mentor Prof. dr Darko Plećaš

Potpisani 


izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, 23.04.2018.



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Inflamatorni odgovor prevremeno porođenih žena sa inflamatornim bolestima parodoncijuma

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, 23.04.2018.



1. Autorstvo - Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. Autorstvo - nekomercijalno – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. Autorstvo - nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. Autorstvo – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. Autorstvo - deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.