

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2019

DIANA VORÁČKOVÁ

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví B5345

Diana Voráčková

Studijní obor: Zdravotní laborant 5345R020

MORFOLOGIE A IMUNOHISTOCHEMICKÝ PROFIL ZÁNĚTLIVÝCH LÉZÍ

V PLACENTĚ

Bakalářská práce

Vedoucí práce: MUDr. Magdaléna Dubová, Ph.D.

PLZEŇ 2019

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI

Fakulta zdravotnických studií

Akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Diana VORÁČKOVÁ**
Osobní číslo: **Z16B0120P**
Studijní program: **B5345 Specializace ve zdravotnictví**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Název tématu: **Morfologie a imunohistochemický profil zánětlivých lézí v placentě**
Zadávající katedra: **Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví**

Zásady pro vypracování:

- Zpracovat seznam odborné literatury na vybrané téma
- Stanovit cíl kvalifikační práce
- Zpracovat teoretickou a praktickou část práce dle požadavků FZS
- Popsat metodiku praktické části
- Vypracovat diskuzi a závěr kvalifikační práce
- Dodržet formální úpravu kvalifikační práce dle požadavků FZS
- Dodržet citační normu

Rozsah grafických prací:

Rozsah kvalifikační práce:

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

- Redline RW. Classification of placental lesions. Am J Obstet Gynecol. 2015 Oct;213(4 Suppl):S21-8.
- Khong TY, Mooney EE, Ariel I et al. Sampling and Definitions of Placental Lesions: Amsterdam Placental Workshop Group Consensus Statement. Arch Pathol Lab Med. 2016 Jul;140(7):698-713.
- Baergen R. Manual of Pathology of the Human Placenta: Second Edition. 2nd ed. 2011. New York, NY, United States: Springer, 2011. ISBN 9781441974938.
- Kappel K, Pospíšilová V. Embryologický atlas: Atlas of embryology. Osveta, 1996. ISBN 8021705493.
- Kaplan C. Color Atlas of Gross Placental Pathology: Second edition. 2. US: Springer, 2007. ISBN 9780387338422l.
- JIRKOVSKÁ, Marie. Histologická technika: Pro studenty lékařství a zdravotnické techniky. Druhé, doplněné vydání. Praha: Galén, 2017. ISBN 978-80-7492-325-8.

Vedoucí bakalářské práce:

MUDr. Magdaléna Dubová

Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Datum zadání bakalářské práce: 31. ledna 2018

Termín odevzdání bakalářské práce: 29. března 2019



PhDr. Lukáš Štich
pověřen vedením fakulty



PhDr. Alena Písecká
vedoucí katedry

V Plzni dne 1. února 2019

Čestné prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a všechny použité prameny jsem uvedla v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne:

.....

vlastnoruční podpis

ABSTRAKT

Příjmení a jméno: Diana Voráčková

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Morfologie a imunohistochemický profil zánětlivých lézí v placentě

Vedoucí práce: MUDr. Magdaléna Dubová, Ph.D.

Počet stran: číslované 61, nečíslované 22

Počet příloh: 4

Počet titulů použité literatury: 27

Klíčová slova: placenta, záněty, chorioamnionitida, vilitida neznámé etiologie, fetální růstová restrikce

Vlastní text: Mezi nejčastější patologické procesy postihující placentu patří záněty. Tato bakalářská práce se zabývá charakteristikou a klasifikací placentárních zánětů v souboru placent vyšetřených během jednoho roku na Šiklově ústavu patologie.

V teoretické části jsou shrnuty základní informace o vývoji, anatomii a funkcích placenty, zánětlivých změnách placenty včetně jejich klasifikace a komplikacích, které mohou tyto záněty způsobit.

Praktická část je zaměřena na vyhodnocení statistických dat a jejich srovnání s literárními údaji. V této části je popsána frekvence výskytu jednotlivých typů zánětů, jejich asociace s patologickými stavy plodu a korelace klinických a morfologických diagnóz. Součástí této práce je i vyhodnocení imunohistochemického vyšetření v souboru 15 placent plodů s růstovou restrikcí, ve kterých nebyl nalezen chronický zánět ani jiný morfologický korelát této diagnózy. Výsledky prokázaly užitečnost tohoto vyšetření, neboť v jednom z případů byl dodatečně nalezen chronický idiopatický zánět.

ABSTRACT

Surname and name: Diana Voráčková

Department: Department of Rescue Services and Technical Fields

Title of thesis: Morphology and immunohistochemical profile of inflammatory lesions in placenta

Consultant: MUDr. Magdaléna Dubová, Ph.D.

Number of pages: numbered 61, unnumbered 22

Number of appendices: 4

Number of literature items used: 27

Keywords: placenta, inflammations, chorioamnionitis, villitis of unknown etiology, fetal growth restriction

Text: The most common pathological processes affecting the placenta are inflammations. This bachelor thesis deals with the characteristics and classification of placental inflammations in a series of placentas examined during 1-year period at the Šikl's Institute of Pathology.

The theoretical part of the thesis summarizes basic information about the development, anatomy and functions of the placenta, inflammatory changes of the placenta including their classification and associated complications.

The practical part is focused on the evaluation of statistical data and their comparison with literature data. This part describes the frequency of individual types of inflammation, their association with pathological conditions of the fetus and correlation of clinical and morphological diagnoses. Moreover, the practical part includes evaluation of immunohistochemical examination in a set of 15 placentas of fetuses with growth restriction, in which neither chronic inflammatory changes nor other known pathological findings associated with this diagnosis were found. The results demonstrate the utility of this examination, because in one of the cases the chronic idiopathic inflammation was subsequently confirmed.

PŘEDMLUVA

Záněty patří mezi nejčastější patologické stavy postihující placentu. Předmětem této práce je sledování výskytu, morfologie a imunohistochemických charakteristik zánětlivých lézí v placentě se zvláštním přihlédnutím k tzv. chronickým zánětům neznámé etiologie. Přestože chronické imunitně podmíněné záněty představují v celém spektru patologických změn pouze minoritní skupinu lézí, je jejich znalost nesmírně důležitá, protože mohou být příčinou řady komplikací.

V této bakalářské práci jsou shrnuty výsledky vlastního pozorování, které bylo zaměřeno na zmapování spektra patologických nálezů v sérii placent vyšetřených během jednoho roku na Šiklově ústavu FN Plzeň. Dílčím cílem bylo dále vyhodnocení speciálního imunohistochemického barvení ve vybraném souboru placent plodů s prokázanou růstovou restrikcí. Na základě našich výsledků lze doporučit imunohistochemické ověření přítomnosti chronických zánětů v morfologicky neobjasněných případech růstové restrikce plodu.

Poděkování:

Ráda bych poděkovala MUDr. Magdaléně Dubové, Ph.D. za odborné vedení práce, za její neuvěřitelnou trpělivost, za veškerou pomoc, poskytnuté materiály a cenné rady, za ohromné množství času, které mi věnovala a také za její velkou ochotu a neutuchající nadšení. Protože bez ní by tato práce nikdy nemohla vzniknout.

OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ	11
SEZNAM GRAFŮ	11
SEZNAM TABULEK	12
SEZNAM ZKRATEK	13
ÚVOD.....	15
TEORETICKÁ ČÁST	16
1 FYZIOLOGIE PLACENTY	16
1.1 Vývoj placenty	16
1.2 Anatomie placenty	17
1.3 Funkce placenty	18
1.3.1 Cirkulace krve v placentě.....	18
1.3.2 Endokrinní funkce placenty	20
1.3.3 Bariérová funkce placenty	21
2 ROZDĚLOVÁNÍ ZÁNĚTŮ PLACENTY	23
2.1 Dle cesty infekce.....	23
2.2 Dle původce	23
2.3 Dle složení zánětlivého infiltrátu.....	23
3 KLASIFIKACE ZÁNĚTŮ DLE AMSTERDAMSKÝCH KRITÉRIÍ 2014.....	24
3.1 Záněty infekční etiologie	26
3.1.1 Ascendentní záněty	26
3.1.2 Hematogenní infekce	30
3.2 Idiopatické záněty placenty	34
3.2.1 Vilitida neznámé etiologie (Villitis of Unknown Etiology, VUE)	34
3.2.2 Chronická chorioamnionitida.....	37
3.2.3 Eosinofilní/T-buněčná veskulitida cév choriové plotny	37
3.2.4 Chronická (lymfoplasmocytární) decidualitida	37

3.2.5 Chronická histiocytární intervilitida.....	38
4 VÝZNAM PRO MATKU A PLOD.....	39
4.1 Předčasná ruptura plodových obalů (PPROM) a předčasný odtok plodové vody	39
4.2 Předčasný porod.....	39
4.3 Postižení plodu.....	40
4.4 Postižení matky.....	40
4.5 Fetální růstová restrikce (FGR) plodu	41
4.6 Spontánní potrat a nitroděložní odumření plodu	42
PRAKTICKÁ ČÁST	43
5 CÍL VÝZKUMU	43
6 VÝZKUMNÉ OTÁZKY, VÝZKUMNÉ PROBLÉMY	44
7 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU.....	45
8 METODIKA PRÁCE.....	46
8.1 Výběr sledovaného souboru pacientů	46
8.2 Interpretace získaných dat a jejich statistické vyhodnocení	46
8.3 Výběr vzorků na imunohistochemické vyšetření	46
8.4 Imunohistochemické barvení.....	47
8.5 CD znaky	51
8.2.1 CD8.....	51
8.2.2 CD68.....	51
8.2.3 CD138.....	51
9 VÝSLEDKY	53
9.1 Celkový počet vyšetřených placent	53
9.2 Spektrum nálezů	53
9.3 Případy s prokázaným zánětem	56
9.4 Infekční agens u akutních zánětů.....	58

9.5 Apgar skóre u akutních zánětů	59
9.6 Apgar skóre a další diagnózy u chronických zánětů	61
9.7 Asociace chronických zánětů s fetální růstovou restrikcí.....	62
9.8 Anamnéza matky u chronických zánětů	63
9.9 Shoda klinických diagnóz s patologickými nálezy.....	64
9.10 Imunohistochemické vyšetření placent s diagnostikovanou FGR bez morfologického nálezu.....	67
10 DISKUZE.....	71
ZÁVĚR.....	75
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	76
SEZNAM PŘÍLOH	79
Příloha A pro stranu 51: Protokol – Barvení protilátkami proti CD8	80
Příloha B pro stranu 51: Protokol – Barvení protilátkami proti CD68	81
Příloha C pro stranu 51: Protokol – Barvení protilátkami proti CD138	82
Příloha D Povolení sběru informací ve FN Plzeň	83

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Maternální povrch placenty viditelně rozdělený na kotyledony.....	17
Obrázek 2 Fetální povrch placenty s plodovými obaly	18
Obrázek 3 Schématický obraz průřezu placenty znázorňuje fetální a mateřskou cirkulaci krve v placentě	19
Obrázek 4 Těžká chorioamnionitida s tvorbou subchoriálních mikroabcesů (mikroskopicky).....	27
Obrázek 5 Fetální povrch placenty postižené akutní chorioamnionitidou	27
Obrázek 6 Chorioamnionitida (maternální zánětlivá odpověď, Stage 2, Grade 1)	29
Obrázek 7 Umbilikální flebitis (fetální zánětlivá odpověď, Stage 1, Grade 1).....	29
Obrázek 8 Akutí vilitida a intervilitida způsobená Listeriemi.....	31
Obrázek 9 Chronická vilitida s CMV inkluzemi.....	32
Obrázek 10 CMV inkluze prokázány imunohistochemicky	32
Obrázek 11 Lymfoplasmocytární vilitida se zmnožením Hoffbauerových buněk ve stromatu způsobená Toxoplasmou gondii	33
Obrázek 12 VUE s obliterativní vaskulopatií.....	36
Obrázek 13 Imunohistochemický průkaz CD8 pozitivních maternálních lymfocytů ve stromatu postižených klků u VUE	36
Obrázek 14 VUE prokázaná přítomností CD8 pozitivních T-lymfocytů.....	69
Obrázek 15 CD8 pozitivní T-lymfocyty infiltrující stroma choriových klků	70

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 Schématické znázornění nejčastějších diagnóz	56
Graf 2 Procentuální zastoupení jednotlivých diagnóz chronických zánětů	58

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Klasifikace patologických procesů v placentě dle Amsterdamských kritérií	24
Tabulka 2 Staging a grading ascendentních intrauterinních infekcí	28
Tabulka 3 Gradingový systém Vilitidy neznámé etiologie	35
Tabulka 4 Seznam protilátek použitých pro vlastní výzkum	50
Tabulka 5 Četnost vícečetných gravidit	53
Tabulka 6 Spektrum nálezů popsaných ve vyšetřovaném souboru.....	54
Tabulka 7 Zánětlivé změny ve vyšetřeném souboru placent	57
Tabulka 8 Infekční agens u akutních zánětů	59
Tabulka 9 Údaje o plodech, které zemřely po porodu	60
Tabulka 10 Chronické záněty placenty, asociované diagnózy a bezprostřední poporodní adaptace plodu.....	61
Tabulka 11 Chronické záněty asociované s růstovou restrikcí plodu	63
Tabulka 12 Srovnání klinické diagnózy chorioamnionitidy s morfologickým nálezem.....	65
Tabulka 13 Placenty, u nichž nebyly prokázány změny vedoucí k FGR.....	68

SEZNAM ZKRATEK

β-hCG	β podjednotka lidského choriogonadotropinu (β-human chorionic gonadotropin)
APC	Antigen prezentující buňky (Antigen presenting cells)
bi-bi	bichoriální-biamniální
bi-tri	biamniální-trichoriální
CD	Diferenciační skupina (Cluster of differentiation)
CIUE	Chronická intervilosita neznámé etiologie (Chronic intervillositis of unknown etiology)
CMV	Cytomegalovirus
DAB	Diaminobenzidin
DM	Diabetes mellitus
DVM	Zpožděná zralost choriových klků (Delayed villous maturation)
E/TCV	Eosinofilní/T-buněčná vaskulitida (Eosinophilic/T-cell chorionic vasculitis)
FGR	Fetální růstová restrikce (Fetal growth restriction)
FVM	Fetální vaskulární malperfúze (Fetal vascular malperfusion)
GEU	Extrauterinní gravidita (Graviditas extrauterina)
hCG	Lidský choriogonadotropin (Human chorionic gonadotropin)
hCS	Lidský somatomamotropin (Human somatomammotropin)
HCV	Virus hepatitidy typu C (Hepatitis C virus)
HIV	Lidský virus imunologické nedostatečnosti (Human immunodeficiency virus)
HSV	Virus herpes simplex (Herpes simplex virus)
CHA	Akutní chorioamnionitida (Chorioamnionitis acuta)
IgG	Imunoglobulin G
IUFD	Nitroděložní odumření plodu (Intrauterine fetal death)

IUGR	Nitroděložní růstová restrikce (Intrauterine growth restriction)
MHC	Hlavní histokompatibilní komplex (Major histocompatibility complex)
mono-bi	monochoriální-biamniální
mono-mono	monochoriální-monoamniální
MPFD	Masivní depozita perivilózního fibrinoidu (Massive perivillous fibrin deposition)
MVM	Maternální vaskulární malperfúze (Maternal vascular malperfusion)
PBS	Fosfátový pufr (Phosphate buffered saline)
PPKP	Poloha podélná koncem pánevním
PPROM	Předčasná ruptura plodových obalů (Preterm premature rupture of membranes)
SGA	Malý pro dané gestační stáří (Small for gestational age)
SUA	Jedna umbilikální artérie (Single umbilical artery)
TNF	Faktor nádorové nekrózy (Tumor necrosis factor)
TORCH	Toxoplazmóza, Ostatní, Zarděnky, Cytomegalovirus, Herpes simplex virus (Toxoplasmosis, Others, Rubella, Cytomegalovirus, Herpes simplex virus)
TRAP	Syndrom reverzní arteriální perfúze u dvojčat (Twin reverse arterial perfusion)
TTTS	Transfúzní syndrom u dvojčat (Twin-to-twin transfusion syndrome)
VUE	Vilitida neznámé etiologie (Villitis of unknown etiology)
WHO	Světová zdravotnická organizace (World health organisation)

ÚVOD

Záněty patří mezi nejčastější patologické stavy postihující placentu. Na základě Amsterdamské klasifikace placentárních lézí z roku 2014 lze záněty rozdělit do dvou velkých kategorií. První kategorie je reprezentována dobře známými záněty infekční etiologie, druhou kategorií představují záněty idiopatické.

Skupina idiopatických zánětů se v současnosti dostává do popředí vědeckého zájmu. Jedná se o záněty, v jejichž etiopatogenezi se uplatňuje abnormální reakce mateřského imunitního systému proti antigenům plodu. Vzhledem k tomu, že plod není geneticky totožný s matkou a placentární bariéra ve skutečnosti nefunguje stoprocentně, předpokládá se, že mateřský imunitní systém po kontaktu s fetálními antigeny začne proti těmto intenzivně reagovat ve snaze o jejich eliminaci. Výsledkem je chronický zánět, který může postihnout kteroukoliv část placenty.

Přesto, že z hlediska incidence stojí chronické idiopatické záněty placenty v pozadí majoritní skupiny představované akutními záněty infekční etiologie, z klinického hlediska jde o procesy velmi významné. Tyto záněty mohou negativně ovlivňovat průběh gravidity a mohou významně přispívat ke zvýšení fetální morbidity a mortality.

Tato bakalářská práce je rozdělena na část teoretickou a část praktickou. V první části jsou shrnuty obecné informace o vývoji, anatomii a funkci placenty. Další kapitola je věnována problematice zánětlivých lézí v placentě a jejich současné klasifikaci.

V praktické části, která byla zaměřena především na statistické vyhodnocení dat z vlastního souboru případů, jsou získané informace porovnávány s literárními údaji. Poslední část práce je zaměřena na praktické vyhodnocení imunohistochemického vyšetření exprese antigenů CD8 (Cluster of Differentiation), CD68 a CD138 ve vybraném souboru 15 placent.

TEORETICKÁ ČÁST

1 FYZIOLOGIE PLACENTY

Placenta je důležitým orgánem, který zprostředkovává funkční propojení mezi plodem a matkou. Z její anatomie lze vyčíst množství informací o průběhu těhotenství, stavu plodu i případných patologiích.

1.1 Vývoj placenty

Na vývoji placenty se podílí mateřské tkáně (endometrium) i fetální tkáně (trofoblast).

Vývoj placenty začíná ve fázi blastocysty. Ta se již nachází uvnitř dělohy a dochází k její nidaci. Na povrchu blastocysty se nachází trofoblast, který se asi sedmý den po oplodnění diferencuje na dvě morfologicky i funkčně odlišné části. Vnitřní vrstva se nazývá *cytotrofoblast* a vnější vrstva *syncytiotrofoblast*. Buňky cytotrofoblastu jsou mitoticky velmi aktivní, rychle se dělí a dávají základ primárním choriovým klkům. Syncytiotrofoblast vzniká splýváním buněk cytotrofoblastu a díky působení proteolytických enzymů narušuje děložní sliznici. Rozpadající se endometrium je výživným substrátem pro vyvíjející se embryo (tzv. *histiotrofě*). Přibližně od desátého dne se v syncytiotrofoblastu začínají vytvářet lakuny, které postupně splývají, vzájemně se propojují a vytvářejí prostorovou síť, která je základem intervilózních prostor. Do těchto prostor postupně začíná proudit mateřská krev z narušených spirálních arteriol (tzv. *hemotrofě*). Tímto způsobem vzniká uteroplacentární oběh. (Kapeller a Pospíšilová, 1996)

Přibližně čtrnáctý den po oplození jsou již vyvinuty sekundární choriové klky, v jejichž centru jsou přítomny mesenchymální buňky pocházející z extraembryonálního mesodermu. (Kapeller a Pospíšilová, 1996)

Ve třetím týdnu vývoje se začínají v těchto klcích tvořit krevní ostrůvky, z nichž se vyvíjejí kapiláry. Choriové klky obsahující kapiláry se nazývají terciární klky. Vývojem těchto kapilár je vytvořen předpoklad pro výměnu látek mezi mateřskou (krev v intervilózních prostorech omývající povrch choriových klků) a fetální krví (krev v kapilárách uvnitř choriových klků). Rovněž dochází k vývoji cév v tzv. zárodečném stvolu, z nichž časem vzniknou cévy umbilikální. (Kapeller a Pospíšilová, 1996)

Na začátku čtvrtého měsíce vývoje plodu se kmenové klky větví na menší volné klky. Tyto klky, choriová plotna a bazální membrána jsou pokryty buňkami cytotrofoblastu a tenkou vrstvou buněk syncytiotrofoblastu. (Kapeller a Pospíšilová, 1996)

1.2 Anatomie placenty

Placenta je orgán tvaru disku, který je bohatě prostoupen cévami. Zralá placenta má průměr až 20 cm, tloušťku 3 cm a hmotnost přibližně 500 g. Polovinu této hmotnosti tvoří krev matky. Krev plodu tvoří kolem 15 % hmotnosti placenty. Placenta je neúplně rozdělena septy na 15 – 20 segmentů neboli kotyledonů. (Kaplan, 2007)

Mateřská část placenty (*pars materna placentae*) je derivátem přeměněného stromatu děložní sliznice (*decidua basalis*). Bazální decidua vzniká v sekreční fázi menstruačního cyklu vlivem působení progesteronu. Těhotenská decidua je tvořena velkými sférickými buňkami bohatými na lipidy a glykogen, které jsou roztroušeny v řídkém kolagenním vazivu. Z bazální deciduy vyrůstají septa oddělující jednotlivé kotyledony, které jsou patrné na Obrázku 1. (Vajner, Uhlík a Novotný, 2012)

Obrázek 1 Maternální povrch placenty viditelně rozdělený na kotyledony



Zdroj: M. Dubová, Š. Hadravská – Šiklův ústav patologie FN Plzeň

Fetální část placenty (*pars foetalis placentae*) je reprezentována choriovou plotnou, choriovými klky a pupečníkem. Vlastní choriová plotna je tvořena vazivem mesenchymálního původu. Povrch choriové plotny je ze strany přivrácené k plodu kryt jednovrstevným amniálním epitelem, ze strany opačné buňkami cytotrofoblastu a syncytiotrofoblastu. Z choriové plotny vyrůstají choriové klky směřující k bazální deciduy. Centrum každého kotyledonu tvoří kmenový klk, jenž se dále větví na nezralé a zralé intermediální choriové klky. Nezralé choriové klky jsou zakončeny mezenchymálními klky, zralé choriové klky jsou zakončeny klky terminálními. (Vajner, Uhlík a Novotný, 2012)

Obrázek 2 Fetální povrch placenty s plodovými obaly



Zdroj: M. Dubová, Š. Hadravská – Šiklův ústav patologie FN Plzeň

1.3 Funkce placenty

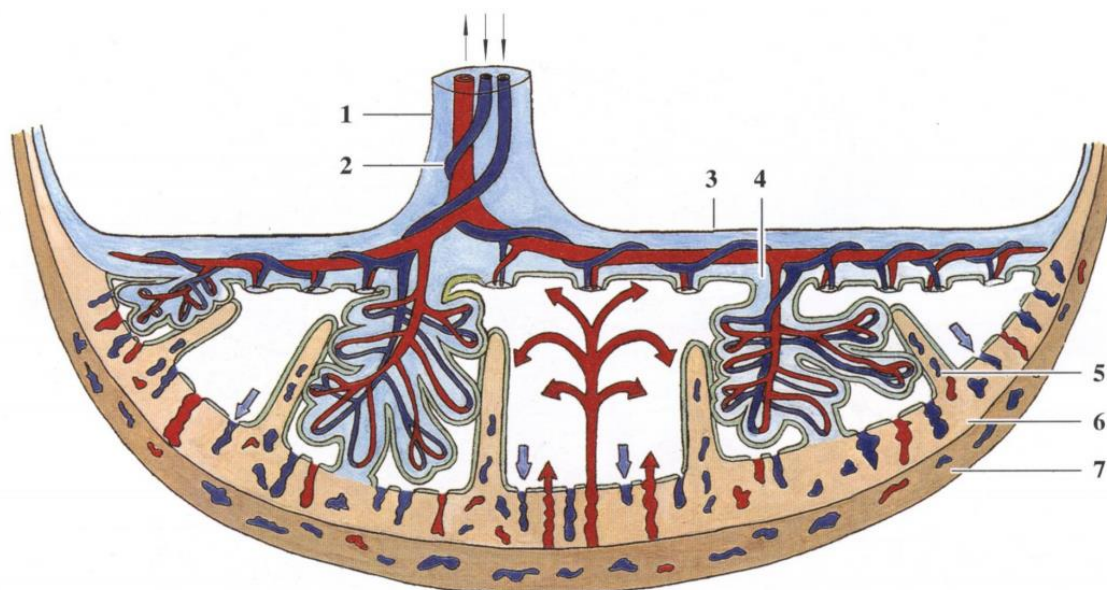
Placenta zprostředkovává výměnu látek, metabolitů a dýchacích plynů mezi matkou a plodem, produkuje řadu hormonů a slouží jako imunologická bariéra.

1.3.1 Cirkulace krve v placentě

Výměna látek, metabolitů a dýchacích plynů je zprostředkována krevním oběhem v placentě. Ten se dělí na uteroplacentární (mezi matkou a placentou) a fetoplacentární (mezi plodem a placentou). Mateřská krev proudí spirálními arteriemi do intervilózních

prostor a omývá choriové klky. (Kapeller a Pospíšilová, 1996) Na úrovni choriových klků dochází k výměně dýchacích plynů, metabolitů a dalších látek mezi krví matky a krví plodu. Látková výměna je velmi efektivní a probíhá zejména na úrovni terminálních choriových klků. Naproti tomu klky kmenové mají spíše nosnou funkci. Dýchací plyny přestupují do periferních klků difúzí. (Trojan, 2003) Fetální krev obohacená o látky transportované z mateřské krve (kyslík, minerály, hormony, vitamíny, imunoglobulin G) proudí cévami choriových klků směrem k choriové plotně, odkud odtéká do umbilikálních žíl (*vena umbilicalis*) a dále k plodu. Od plodu je dvěma umbilikálními tepnami (*aortae umbilicalis*) vedena odkysličená krev (společně s močovinou, kyselinou močovou a dalšími katabolity) zpět do cév choriových klků, odkud oxid uhličitý přechází difúzí do mateřské krve v intervilózních prostorech. (Trojan a Schreiber, 2002) Pupečником tedy vedou dvě umbilikální tepny a jedna umbilikální žíla, které jsou chráněné Whartonovým rosolem. (Kapeller a Pospíšilová, 1996)

Obrázek 3 Schématický obraz průřezu placenty znázorňuje fetální a mateřskou cirkulaci krve v placentě



Zdroj: Kapeller K., Pospíšilová V. *Embryologický atlas/Atlas of Embryology*, 1. Vyd. Martin, Osveta, c1996. ISBN 80-217-0549-3, s. 33

1 - Pupečník, 2 - Umbilikální artérie, 3 - Choriová plotna, 4 - Kmenový klk, 5 - Septum placenty, 6 - Bazální plotna, 7 - Myometrium

Červené šipky označují tok okysličené krve od matky k plodu, modré šipky označují tok odkysličené krve od plodu k matce.

1.3.2 Endokrinní funkce placenty

Placenta je producentem hormonů, které udržují těhotenství a podporují jej. Jedním z těchto hormonů je choriový gonadotropin nebo také lidský choriogonadotropin (hCG). Patří mezi glykoproteinové hormony, které se skládají z podjednotek α a β . α podjednotku mají glykoproteinové hormony společnou zatímco β podjednotka se u každého hormonu liší. Proto se ke stanovení hCG využívá detekce β -hCG. Tento hormon je produkován syncytiotrofoblastem. (Costa, 2016) Hlavní funkcí je stimulace růstu žlutého tělíska (*corpus luteum*) a tím stimulace tvorby progesteronu a potlačení tvorby dalších folikulů v ovariích. Dále se tento hormon uplatňuje při vývoji gonád, zevního genitálu a nadledvin plodu. Produkce hCG začíná velmi časně po oplození, v krvi je detekovatelný přibližně od 7. – 9. dne po oplození. V moči jej lze detekovat asi od 7. – 10. dne, čehož lze s úspěchem využít k časně diagnostice gravidity. (Trojan, 2003) Nejvyšších hodnot dosahuje hCG okolo 70. – 80. dne gravidity a po porodu plodu a placenty je vylučován do moči ještě přibližně týden. Vzhledem k tomu, že koncentrace hCG se mění v průběhu těhotenství, lze dle jeho hodnot odhadnout přibližnou délku gravidity. (Costa, 2016)

Nízká koncentrace může být známkou nitroděložního odumření plodu, hrozícího potratu nebo extrauterinní gravidity (GEU). Naopak zvýšené hodnoty mohou provázet vícečetné těhotenství nebo trisomii 21. chromozomu (Downův syndrom). (Kobilková, 2005)

Dalším významným hormonem produkovaným placentou je progesteron. Tento hormon bývá někdy nazýván hormonem těhotenství. Patří mezi gestageny, což je skupina pohlavních hormonů s antiestrogenním a antigonadotropním působením. Prvních 6 – 8 týdnů jej syntetizuje corpus luteum, poté přebírá tuto funkci placenta, konkrétně mitochondrie syncytiotrofoblastu, kde je syntetizován z cholesterolu. Funkcí progesteronu je udržení těhotenství a stimulace mléčné žlázy. (Costa, 2016)

Mezi další důležité hormony produkované placentou patří estrogeny (estron, 17- β -estradiol, estriol a estetrol). Sekrece estrogenů v placentě začíná po prvním měsíci těhotenství a je stimulována hCG. Hladina estrogenů (zejména estriolu) kontinuálně roste až do porodu. Estrogeny všeobecně stimulují růst dělohy a mléčné žlázy. Estriol zvyšuje krevní průtok v uteroplacentárním oběhu. 17- β -estradiol hraje nejdůležitější roli ze všech estrogenů v průběhu těhotenství. Stimuluje růst a diferenciaci endometria, účastní se regulace uteroplacentárního krevního oběhu a navozuje vasodilataci děložních a

placentárních artérií. Nízké hodnoty estrogenů mohou signalizovat zhoršenou funkci placenty nebo orgánů plodu. (Costa, 2016)

Hormon, který má hlavní vliv na výživu plodu se nazývá choriový somatomamotropin (hCS). Bývá také označován jako placentární laktogen. Tento polypeptidový hormon je svou strukturou podobný růstovému hormonu. Je produkován syncytiotrofoblastem a jeho hodnoty stoupají kontinuálně s délkou gravidity. Hormon stimuluje růst a vývoj prsní žlázy a laktaci, u plodu ovlivňuje metabolismus glycidů, lipidů, draslíku a dusíku. (Costa, 2016)

1.3.3 Bariérová funkce placenty

Hlavní funkcí placenty jako bariéry je zabránit mísení fetální krve s mateřskou krví. Tato bariéra ovšem nefunguje stoprocentně. Pokud dojde k průniku erytrocytů Rh pozitivního plodu do krevního oběhu Rh negativní matky, dojde k aktivaci maternálního imunitního systému a tvorbě inkompletních protilátek třídy IgG (imunoglobulin G) proti fetálním antigenům (fetálním erytrocytárním antigenům). První těhotenství není zpravidla ohroženo. Při následujícím těhotenství (a s každým následujícím těhotenstvím závažnost projevů roste), pokud je plod rovněž Rh pozitivní, dojde k masivní produkci protilátek proti fetálním erytrocytům, což vyústí v jejich zrychlenou destrukci ve slezině. Následná anémie může vést ke smrti plodu. Tento jev se nazývá *hemolytické onemocnění novorozence*. Produktem rozpadu fetálních erytrocytů je nekonjugovaný bilirubin, který může přecházet přes hematoencefalickou bariéru a způsobit nevratné poškození mozku (tzv. jádrový ikterus). Hladinu nekonjugovaného bilirubinu lze kontrolovat odběrem amniové tekutiny. Prevencí rozvoje hemolytického onemocnění novorozence je tzv. anti-D-profylaxe. (Dort et al., 2013)

Placentární bariéra je selektivně propustná a tato okolnost musí být respektována při podávání různých léků a preparátů během gravidity, neboť některé z nich mohou mít teratogenní účinek. Placentární bariéra je rovněž prostupná pro alkohol, nikotin a další návykové látky.

Placentární bariérou může pronikat také řada mikroorganismů, zejména viry. Některé z nich mohou negativně ovlivňovat vývoj plodu. Mezi nejzávažnější infekce, jejichž původci mohou překonat placentární bariéru, patří např. spalničky, zarděnky, toxoplazmóza, syfilis nebo HIV (Lidský virus imunologické nedostatečnosti). (Baergen, 2011)

Jedinou protilátkou, které volně prochází z krevního oběhu matky do fetální cirkulace je IgG (imunoglobulin G). (Trojan, 2003)

2 ROZDĚLOVÁNÍ ZÁNĚTŮ PLACENTY

Záněty patří mezi nejčastější patologické stavy postihující placentu. Zánětlivé procesy v placentě lze klasifikovat dle různých kritérií:

2.1 Dle cesty infekce

Ascendentní záněty jsou způsobeny především bakteriemi a mykoorganismy, které do placenty pronikají z vnějšího prostředí (z cervikovaginálního kanálu). Tyto záněty nejčastěji postihují choriovou plotnu, plodové obaly, v nejtěžších případech může být postižen i pupečník. (Redline, 2015)

Hematogenní záněty placenty jsou způsobeny průnikem mikroorganismů z krve matky. Původci jsou především viry a protozoa včetně infekčních agens z tzv. skupiny TORCH (z anglického: Toxoplasmosis; Others; Rubella; Cytomegalovirus; Herpes simplex virus – v češtině: toxoplazmóza; jiné – např. syfilis, HCV, parvovirus B19, varicella zoster aj.; zarděnky; cytomegalovirus; virus herpes simplex). Tyto záněty postihují především intervilózní prostory a stroma choriových klků. (Redline, 2015)

2.2 Dle původce

Záněty placenty jsou nejčastěji způsobeny infekcemi. Původci mohou být bakterie, viry, prvoci i plísňe. Definována je však i skupina zánětů neinfekční etiologie, které jsou podmíněny reakcí maternálního imunitního systému na antigeny plodu. Jde o tzv. chronické záněty neznámé etiologie. (Kim et al., 2015b)

2.3 Dle složení zánětlivého infiltrátu

Podle složení zánětlivého infiltrátu lze záněty placenty rozdělit na chronické a akutní. Akutní záněty jsou charakterizované predominancí neutrofilních granulocytů v zánětlivém infiltrátu. U chronických zánětů nacházíme v zánětlivém infiltrátu velké množství lymfocytů, plasmatických buněk a histiocytů. (Baergen, 2011)

3 KLASIFIKACE ZÁNĚTŮ DLE AMSTERDAMSKÝCH KRITÉRIÍ 2014

Podle Amsterdamských kritérií jsou patologické procesy placenty rozděleny na procesy vaskulární, zánětlivé a jiné, přičemž skupinu zánětů lze dále dělit na záněty infekční etiologie a záněty imunitně podmíněné. V Tabulce 1 převzaté z článku *Classification of Placental Lesions* je uvedena současná klasifikace patologických stavů placenty. (Redline, 2015)

Tabulka 1 Klasifikace patologických procesů v placentě dle Amsterdamských kritérií

Placentární vaskulární procesy			
Maternální stromo-vaskulární léze			
Poruchy vývoje			
Deciduální arteriopatie			
Zmnožení nezralého extravilózního trofoblastu			
Malperfúze			
Globální/Parciální			
Časná: Distální vilózní hypoplázie			
Pozdní: Akcelerovaná maturace choriových klků			
Segmentální/Kompletní			
Vilózní infarkty			
Ztráta integrity			
Abrupce centrální (tepenná)			
Abrupce marginální (žilní)			
Akutní			
Chronická			
Fetální stromo-vaskulární léze			
Poruchy vývoje			
Kapilární léze			
Zpožděné vyzrávání choriových klků (vada vyzrávání)			
Dysmorfické choriové klky			
Malperfúze			
Globální /Parciální			

			Obstrukční léze pupečníku
			Depozita intramurálního fibrinu ve velkých fetálních cévách
			Malá ložiska avaskulárních choriových klků a klků se stromo-vaskulární karyorrhéxi krevních elementů
			Segmentální/Kompletní
			Tromby v cévách choriové plotny nebo v cévách kmenových klků
			Velká ložiska avaskulárních choriových klků nebo klků se stromo-vaskulární karyorrhéxi krevních elementů
			Ztráta integrity
			Ruptura velkých cév (fetální hemoragie)
			Ruptura malých cév (fetomaternální hemoragie)
			Edém stromatu choriových klků
Zánětlivé a imunitně podmíněné procesy v placentě			
Infekční zánětlivé léze			
			Akutní
			Zánětlivá odpověď matky: Chorioamnionitida, Subchorionitida
			Zánětlivá odpověď plodu: Vaskulitida choriálních a umbilikálních cév
			Chronické
			Vilitida
			Intervilositida
Imunologické/Idiopatické zánětlivé léze			
			Vilitida neznámé etiologie a s ní spojené léze
			Chronická chorioamnionitida
			Lymfoplazmocytární decduitida
			Eosinofilní T-buněčná vaskulitida
			Chronická histiocytická intervilositida
Další placentární procesy			
			Masivní depozita perivilózního fibrinoidu (maternal floor infarction)
			Abnormální tvar placenty nebo inzerce pupečníku
			Patologicky adheující placenta (<i>placenta accreta, increta, percreta</i>)
			Změny spojené s působením mekonia
			Zvýšený počet erytroblastů ve fetální cirkulaci

Zdroj: REDLINE, R.W. Classification of placental lesions. Am J Obstet Gynecol, 2015, 213(4 Suppl): S21-8.

3.1 Záněty infekční etiologie

Placentární infekce zodpovídají podstatnou měrou za perinatální morbiditu a mortalitu. Placenta a plodové obaly mohou být infikovány několika způsoby: ascendentně, hematogenně a vzácně i přímým šířením infekce z dělohy, vejcovodů nebo pánevní dutiny.

3.1.1 Ascendentní záněty

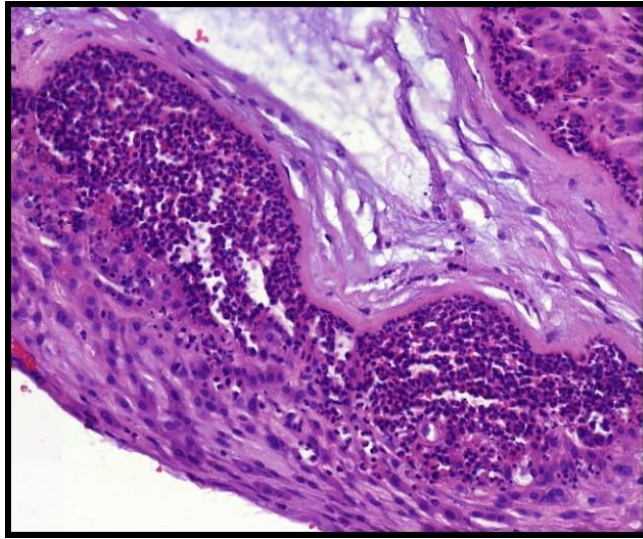
Obvyklou reakcí na ascendentní infekci plodové vody bakteriemi či mykoorganismy je akutní zánět plodových obalů, choriové plotny a pupečníku. Plodové obaly a fetální povrch placenty jsou matné, šedavé či nažloutlé. V pokročilých případech infekce mohou podobné změny postihovat i pupečník. Zánětlivá odpověď na ascendentní infekce je charakterizována poměrně stereotypní odpovědí maternálního i fetálního imunitního systému. (Baergen, 2011)

Maternální odpověď na infekci začíná v subchoriální vrstvě fibrinu a v choriodeciduálním rozhraní plodových obalů. Neutrofilní granulocyty do těchto oblastí migrují z intervilózních prostor a deciduálních cév plodových obalů. Zánět se postupně šíří do vrstvy choria a amnia, v nejtěžších případech může dojít až k nekróze amnia. (Redline, 2015) Přítomnost akutního zánětlivého infiltrátu v subchoriálním fibrinoidu a choriodeciduální tkáni nelze považovat za chorioamnionitidu v pravém slova smyslu a jsou pro ni vyhrazeny termíny akutní subchorionitida nebo akutní chorionitida. (Khong et al., 2016)

Fetální zánětlivou odpověď lze pozorovat nejprve ve stěnách cév choriové plotny a v umbilikální véně, později dochází k poškození umbilikálních artérií a nakonec i stromatu pupečníku neboli Whartonova rosolu. (Redline, 2015)

Symptomy provázející chorioamnionitidu jsou obvykle nespecifické (zvýšená tělesná teplota, leukocytóza, fetální či maternální tachykardie, zvýšená citlivost dělohy, vaginální výtok, který může zapáchat), některé případy mohou být zcela asymptomatické. (Baergen, 2011)

Obrázek 4 Těžká chorioamnionitida s tvorbou subchoriálních mikroabcesů (mikroskopicky)



Zdroj: M. Dubová, Š. Hadravská – Šiklův ústav patologie FN Plzeň

3.1.1.1 Akutní chorioamnionitida

Akutní chorioamnionitida je poměrně běžným onemocněním. Prokázat ji lze až u 24 % placent porozených v termínu a u 67 % placent předčasně porozených plodů. Je jednou z příčin zvýšené perinatální morbidity i mortality. Těžký zánět může být asociován s postižením plic plodu i jeho psychomotorickou retardací. (Baergen, 2011)

Obrázek 5 Fetální povrch placenty postižené akutní chorioamnionitidou



Zdroj: M. Dubová, Š. Hadravská – Šiklův ústav patologie FN Plzeň

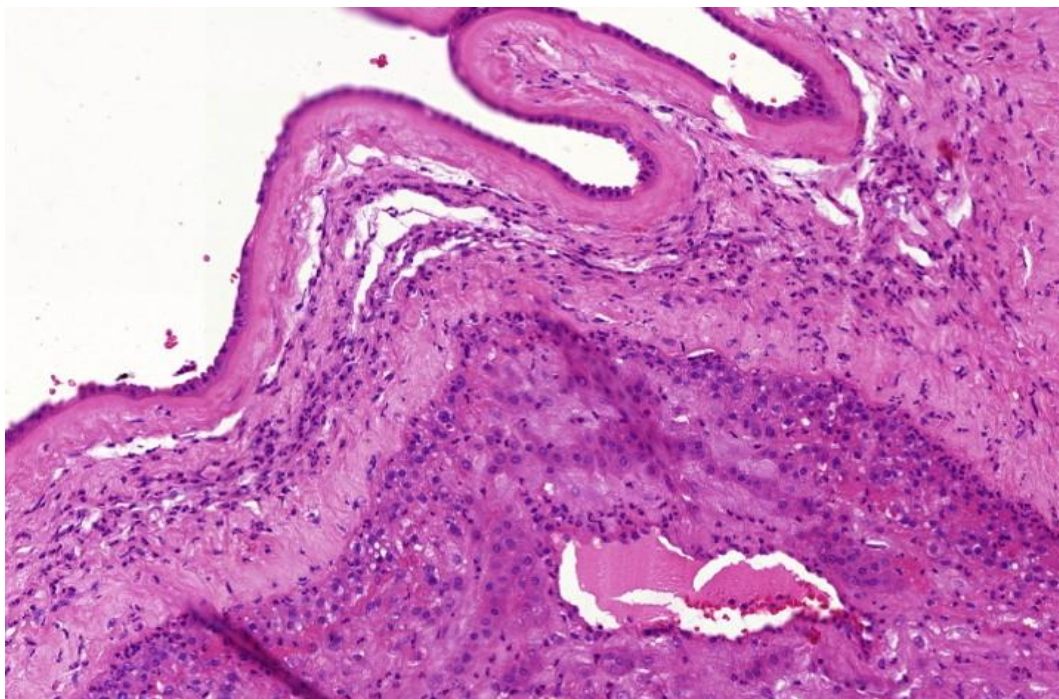
Mikroskopicky lze podle tíže zánětu a distribuce zánětlivého infiltrátu stanovit tzv. grade a stage zánětu (viz Tabulku 2). Obecně lze říci, že vyšší grade a stage je přímo úměrný tíži komplikací. Prognózu plodu lze odhadnout na základě stanovení fetální zánětlivé odpovědi. Čím je tato odpověď rozvinutější, tím je celkový stav plodu závažnější. Fetální morbidita je však spíše než s vlastní infekcí plodu spojena s elevací cytokinů cirkulujících ve fetálním krevním řečišti. (Redline, 2015)

Tabulka 2 Staging a grading ascendentních intrauterinních infekcí

Mateřská zánětlivá odpověď	
Stage	Grade
1 – akutní subchorionitis nebo chorionitis ; neutrofilní granulocyty v subchoriálním fibrinu a/nebo pod trofoblastem plodových obalů	1 – mírná až střední ; ne grade 2
2 – akutní chorioamnionitis ; neutrofilní granulocyty rozptýlené ve vrstvě choria a/nebo amnia	2 – těžká ; splývající ložiska neutrofilních granulocytů nebo subchoriální mikroabcesy choriové plotny/obalů
3 – nekrotizující chorioamnionitis ; karyorrhektický rozpad neutrofilních granulocytů, nekróza amniocytů a/nebo hypereosinofilie bazální membrány amnia	
Fetální zánětlivá odpověď	
Stage	Grade
1 – umbilikální flebitis, vaskulitida choriálních cév	1 – mírná až střední ; ne grade 2
2 – zánětlivé postižení stěny umbilikální vény a jedné/obou umbilikálních artérií	2 – těžká ; téměř splývající intramurální infiltrát tvořený neutrofilními granulocyty, degenerace hladké svaloviny umbilikálních cév
3 – nekrotizující funisitis ; neutrofilní granulocyty ve Whartonově rosolu	

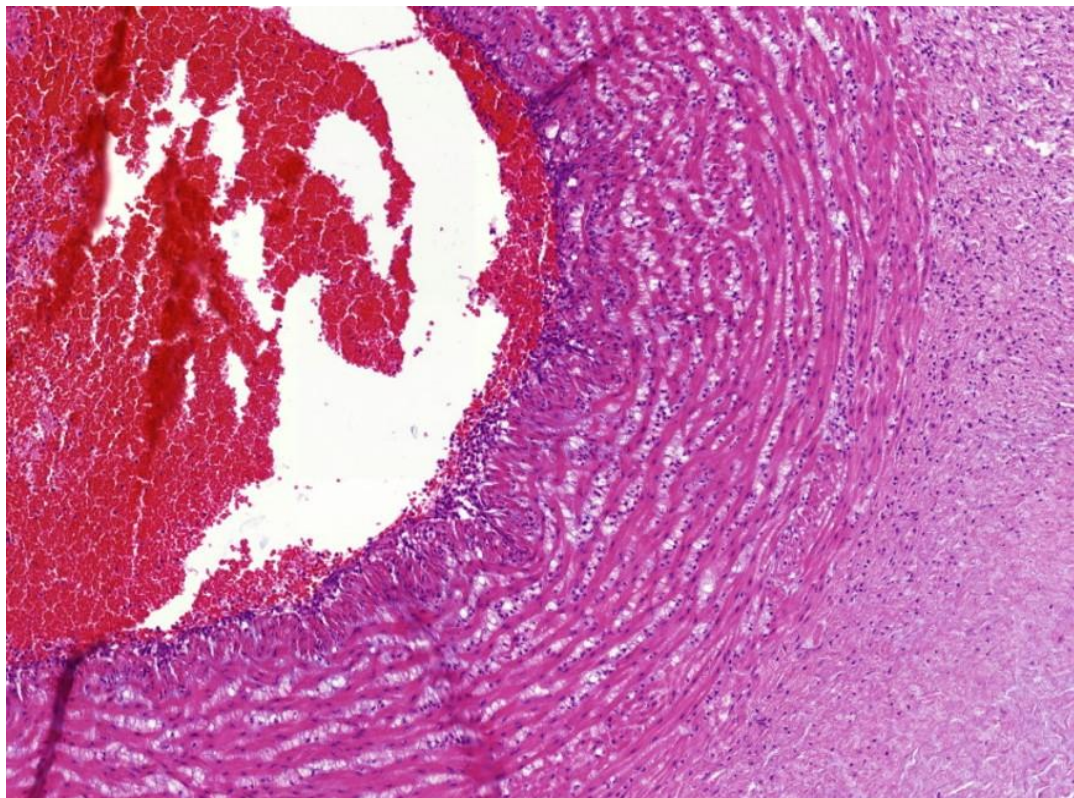
Zdroj: KHONG, T. et al., 2016. Sampling and Definitions of Placental Lesions: Amsterdam Placental Workshop Group Consensus Statement. Archives of Pathology & Laboratory Medicine [online]. 140(7), 698–713. ISSN 0003-9985, 1543-2165.

Obrázek 6 Chorioamnionitida (maternální zánětlivá odpověď, Stage 2, Grade 1)



Zdroj: M. Dubová, Š. Hadravská – Šiklův ústav patologie FN Plzeň

Obrázek 7 Umbilikální flebitis (fetální zánětlivá odpověď, Stage 1, Grade 1)



Zdroj: M. Dubová, Š. Hadravská – Šiklův ústav patologie FN Plzeň

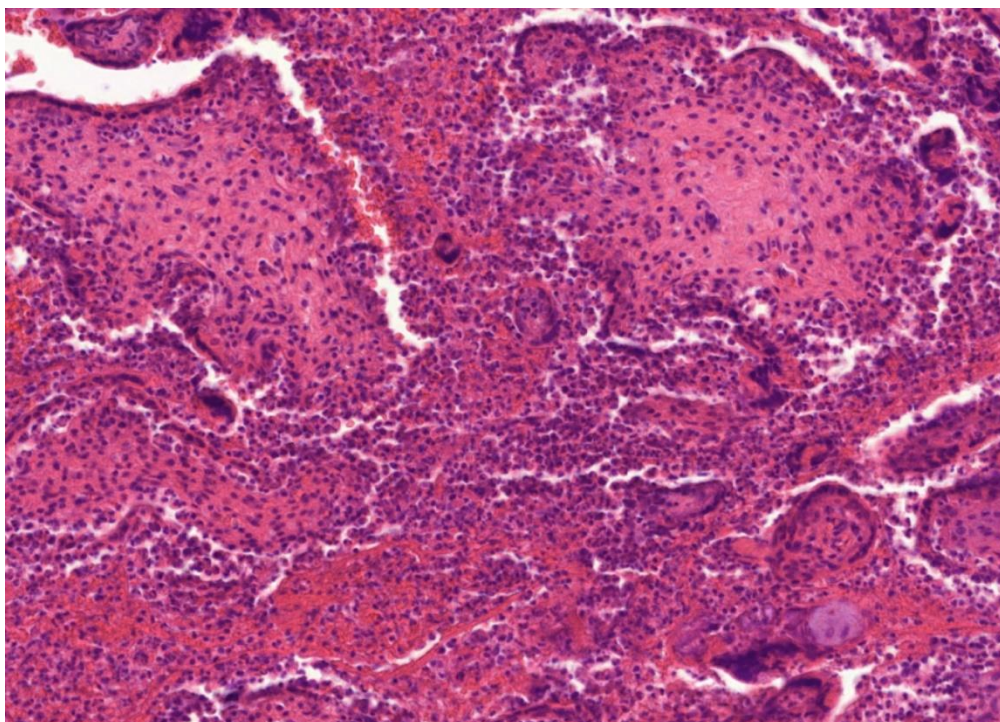
3.1.2 Hematogenní infekce

Původci hematogenních infekcí nejčastěji bývají viry nebo protozoa. Do této skupiny spadají i infekce způsobené mikroorganismy ze skupiny TORCH, které mohou mít silný teratogenní účinek. Při těchto infekcích bývají postiženy především choriové klky, v jejichž stromatu nacházíme edém, fibrózu a zmnožení plazmatických buněk. Jiné infekce, např. malárie, jsou naopak charakterizovány přítomností chronické zánětlivé celulizace v intervilózních prostorech (intervilositida). Na rozdíl od ascendentních infekcí je za fetální morbiditu a mortalitu odpovědná spíše vlastní infekce než elevace zánětlivých cytokinů. (Redline, 2015)

3.1.2.1 Akutní vilitida

Akutní vilitida je charakterizována smíšeným zánětlivým infiltrátem ve stromatu choriových klků a má destruktivní charakter. Izolovaná vilitida je poměrně vzácná. Přítomnost intervilózních abscesů je vysoce suspektní z infekce *Listeria monocytogenes*. Listerie mohou způsobit všechny tři typy zánětlivých onemocnění v jedné placentě: chorioamnionitidu, vilitidu i intervilositidu. *L. monocytogenes* je grampozitivní bakterie, která může kromě poškození placenty způsobit i závažné postižení plodu (neonatální meningoencefalitida) či jeho potrat. Další závažnou komplikací listeriózy je *granulomatosis infantiseptica*, onemocnění charakterizované granulomatózním zánětem nejrůznějších orgánů plodu s přítomností mikroabscesů. Listeriόza je všeobecně spojena s vysokou fetální mortalitou – až 60 %. (Baergen, 2011)

Obrázek 8 Akutí vilitida a intervilitida způsobená *Listeriem*



Zdroj: M. Dubová, Š. Hadravská – Šiklův ústav patologie FN Plzeň

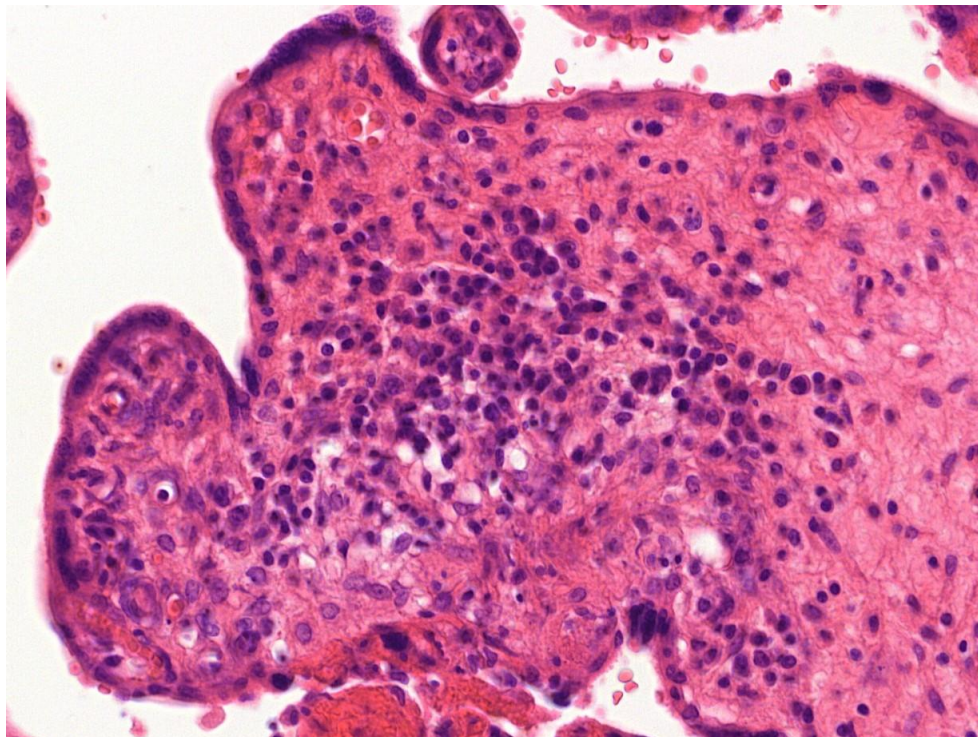
3.1.2.2 Chronická vilitida

Chronická vilitida je chronický zánět stromatu choriiových klků vyvolaný bakteriemi, viry či prvky (vč. mikroorganismů skupiny TORCH), někdy doprovázený chronickou intervilitidou. Oproti chronickým zánětům neinfekční etiologie se vyskytuje zřídka. Může být příčinou IUGR (nitroděložní růstová restrikce), hydropsu plodu, předčasného porodu, potratu nebo nitroděložního odumření plodu. Některá konkrétní infekční agens mohou navíc vyvolávat poměrně charakteristické morfologické změny. (Baergen 2011)

Prvním takovým příkladem je Cytomegalovirus (CMV), který patří do čeledi *Herpesviridae*. Udává se, že promořenost světové populace činí až 90 %. Po překonání infekce virus perzistuje v organismu v latentní fázi a k jeho replikaci dochází při imunosupresi. (Bednář, Souček a Fraňková, 1996) Pokud dojde k primoinfekci matky během gravidity, existuje poměrně vysoké riziko (20 – 50 %) intrauterinní infekce plodu. K těžkému postižení však dochází zřídka a většina infikovaných novorozenců je asymptomatických. Mezi závažné projevy této infekce patří růstová retardace, *hydrops fetalis*, encefalitida či poškození sluchu nebo zraku. Infekce může vést i k potratu plodu. Mikroskopicky lze v choriiových klcích prokázat zánětlivý infiltrát tvořený lymfocyty a

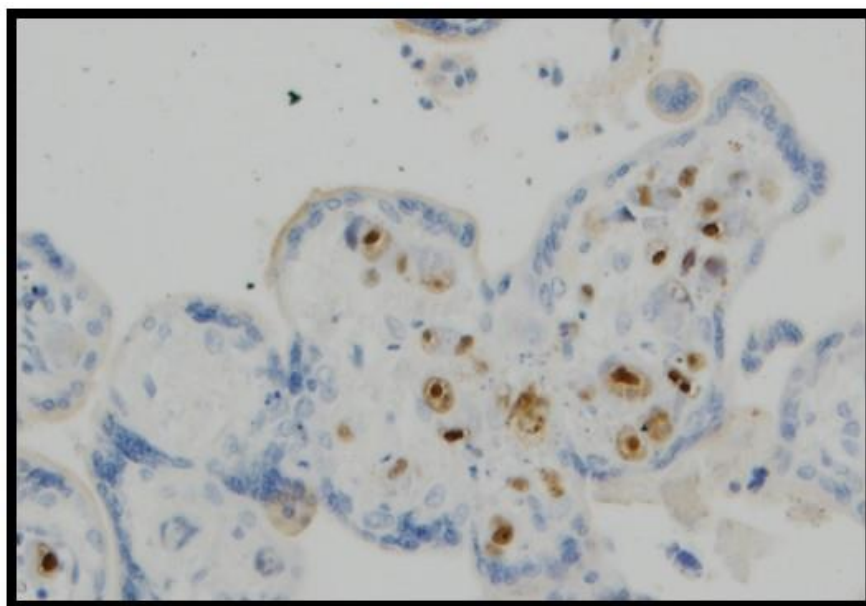
plasmatickými buňkami. Typické CMV inkluze jsou nacházeny zřídka. K jejich lepší vizualizaci lze využít imunohistochemické vyšetření. (Baergen, 2011)

Obrázek 9 Chronická vilitida s CMV inkluzemi



Zdroj: M. Dubová, Š. Hadravská – Šiklův ústav patologie FN Plzeň

Obrázek 10 CMV inkluze prokázány imunohistochemicky

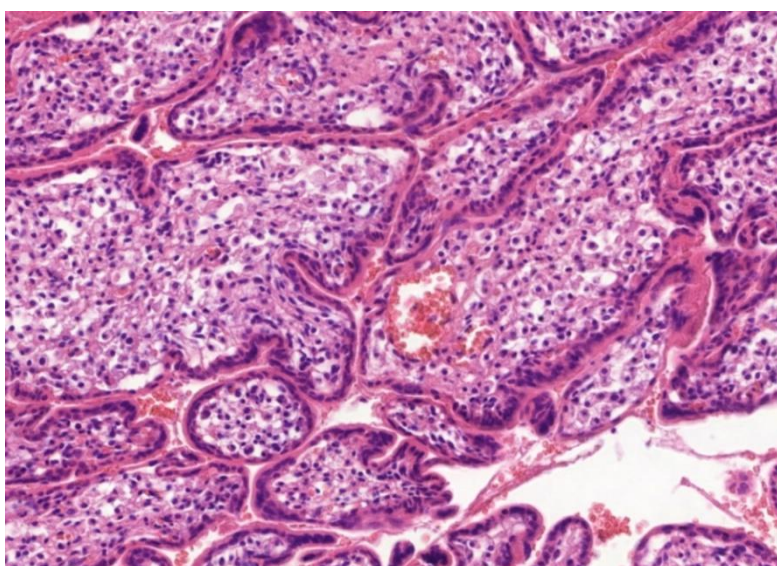


Zdroj: M. Dubová, Š. Hadravská – Šiklův ústav patologie FN Plzeň

Další infekční agens vyvolávající v placentě typické změny je virus *Herpes simplex* (HSV). Stejně jako CMV patří do čeledi *Herpesviridae*. (Bednář, Souček a Fraňková, 1996) Transplacentární přenos infekce je sice vzácný, ale velmi závažný. Projevuje se kožními puchýři či zjizvením, chorioretinitidou, mikroftalmií, mikrocefalií či hydrocefalem. Plody rovněž z pravidla trpí růstovou restrikcí. V mikroskopickém obraze dominuje obraz chronické vilitidy s predominancí plasmatických buněk v zánětlivém infiltrátu. Virové inkluze jsou nacházeny jen zřídka. (Baergen, 2011)

Toxoplasma gondii je intracelulární prvok z čeledi *Sarcocystidae*, jehož definitivním hostitelem jsou kočkovité šelmy a mezihostitelem se může stát i člověk. (Bednář, Souček a Fraňková, 1996) Nakazit se lze i z nedostatečně tepelně upraveného vepřového nebo skopového masa. Při primoinfekci matky během gravidity může dojít k transplacentárnímu přenosu infekce na plod (až 45 % novorozenců nakažených matek je diagnostikována kongenitální toxoplazmóza). Nejzávažnější důsledky pro plod představuje infekce v prvních měsících gravidity. Do obrazu kongenitální toxoplazmózy patří chorioretinitida, encefalitida, hydrocefalus a přítomnost intrakraniálních kalcifikací. V placentě je typickým morfologickým obrazem lymfoplasmocytární nebo granulomatózní vilitida. Toxoplasmové cysty, případně *trophozoity*, jsou nálezem velmi vzácným. Kromě výše popsaných změn mohou být v placentě přítomny hydropické změny choriových klků, infekce může být jednou z příčin hydropsu plodu. (Baergen, 2011)

Obrázek 11 Lymfoplasmocytární vilitida se množením Hoffbauerových buněk ve stromatu způsobená *Toxoplasmou gondii*



Zdroj: M. Dubová, Š. Hadravská – Šiklův ústav patologie FN Plzeň

Treponema pallidum z čeledi *Spirochaetaceae* je anaerobní spirální bakterie způsobující syfilis. U neléčených forem může dojít k transplacentárnímu přenosu na plod. Obecně platí, že čím je kratší interval mezi časnou infekcí matky a těhotenstvím, tím jsou důsledky pro plod závažnější. Při infekci před nebo při početí dochází nejdéle do osmého měsíce gravidity k nitroděložnímu odumření plodu. Při infekci získané během druhého trimestru se narodí nemocné dítě (*syphilis congenita tarda*). Infekce ve třetím trimestru rovněž vede k porodu nemocného dítěte (*syphilis congenita recens*). (Bednář, Souček a Fraňková, 1996) Placenty rodiček trpících syfilidou bývají objemné a bledé. Mohou dosahovat hmotnosti až 2500 gramů. Mikroskopicky lze pozorovat obraz chronické vilitidy s obliterací cév choriových klků, může dojít i k nekróze choriových klků. Dále se může vyskytnout umbilikální vaskulitida a flebitida či nekrotizující funisitida. Syfilis je přenosný na dítě i během porodu. (Baergen, 2011)

Parvovirus B19 je jediným zástupcem čeledi *Parvoviridae*. Primoinfekce v graviditě může významně ohrozit vývoj plodu. Nebezpečí představuje asymptomatický průběh infekce, který se vyskytuje až u 75 % matek. Replikace viru probíhá téměř výhradně v erytroidních buňkách, ve kterých virus působí cytotoxicky. Parvovirová infekce plodu může být příčinou nitroděložního odumření (většinou do druhého trimestru), neimunního hydropsu (*hydrops fetalis*) či chronické anémie. Placenty postižené parvovirovou infekcí bývají zvětšené, bledé a edematózní, v některých případech lze prokázat typické parvovirové inkluze, které připomínají čínské lampiony. Odtud název odvozený anglický název „lantern cells“. (Baergen, 2011)

3.2 Idiopatické záněty placenty

Příčinou idiopatických zánětů placenty není infekce, nýbrž patologická reakce imunitního systému. Tyto záněty mohou postihnout kterýkoliv kompartment (choriové klky, intervilózní prostory, choriovou plotnu, plodové obaly, bazální plotnu).

3.2.1 Vilitida neznámé etiologie (Villitis of Unknown Etiology, VUE)

Vilitida neznámé etiologie (VUE) je nejčastějším idiopatickým zánětem placenty a podle dostupných informací postihuje 5 – 15 % všech vyšetřených placent, přičemž vyšší incidence bývá zaznamenána v placentách plodů porozených v termínu. Jedná se o chronický zánět stromatu choriových klků charakterizovaný predominancí T-lymfocytů maternálního původu v zánětlivém infiltrátu. Přítomnost těchto lymfocytů lze prokázat

imunohistochemickým barvením protilátkou proti antigenu CD8. Zánět může způsobit poškození cév stromatu choriových klků (tzv. obliterativní vaskulopatie) a vézt k tzv. fetální vaskulární malperfúzi (FVM) se všemi důsledky. Jedním z typických znaků bývá rovněž zmnoženého perivilózního fibrinu, který obklopuje choriové klky a znemožňuje tak efektivní výměnu látek mezi fetální a mateřskou krví. (Redline, 2015)

Stejně jako v některých dalších případech je i tento proces s největší pravděpodobností výsledkem reakce maternálního imunitního systému na přítomnost fetálních antigenů v placentě. Tato léze je zatížena poměrně vysokým rizikem recidivy v následujících graviditách (25 – 50 %). Plody jsou ohroženy fetální růstovou restrikcí (FGR), těžké záněty mohou být asociovány i s poškozením centrální nervové soustavy plodu. (Redline, 2015)

Podle intenzity zánětu je VUE rozdělena na VUE mírného stupně (*low-grade*) a VUE výrazného stupně (*high-grade*). Rozlišení mezi jednotlivými stupni je důležité z prognostického hlediska, protože hlavně high-grade VUE může být příčinou habituálního potrácení, předčasných porodů, růstové restrikce či abnormálního neurologického vývoje plodu. Gradingový systém VUE je zobrazen v Tabulce 3. (Redline, 2015)

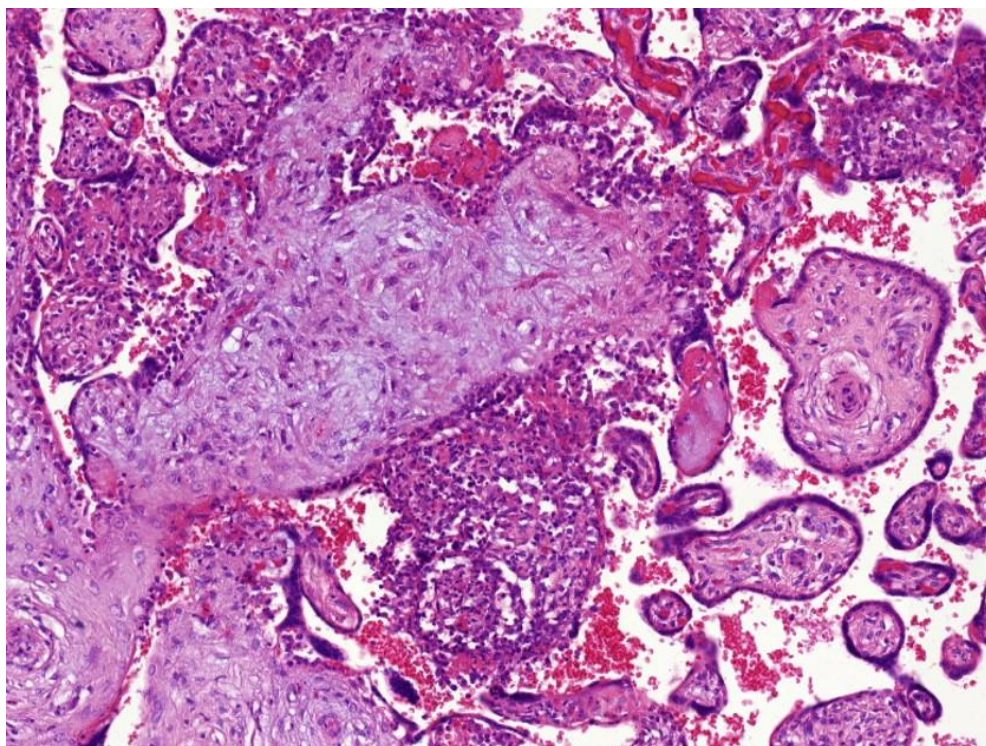
Tabulka 3 Gradingový systém Vilitidy neznámé etiologie

Low-grade	High-grade
(min 2 ložiska, zánětlivé postižení <10 sousedících choriových klků)	(mnohočetná ložiska, zánětlivé postižení > 10 sousedících choriových klků)
Fokální: 1 ložisko (histologický řez)	Disperzní: mnohočetná ložiska v 1 či více řezech, alespoň 1 ložisko sestává z min 10 zánětlivě postižených choriových klků
Multifokální: více ložisek (histologických řezů)	Difúzní: zánětlivě postiženo > 30 % terminálních choriových klků

Zdroj: KHONG, T. et al, 2016. *Sampling and Definitions of Placental Lesions: Amsterdam Placental Workshop Group Consensus Statement. Archives of Pathology & Laboratory Medicine [online]. 140(7), 698–713. ISSN 0003-9985, 1543-2165. Dostupné z: doi:10.5858/arpa.2015-0225-CC*

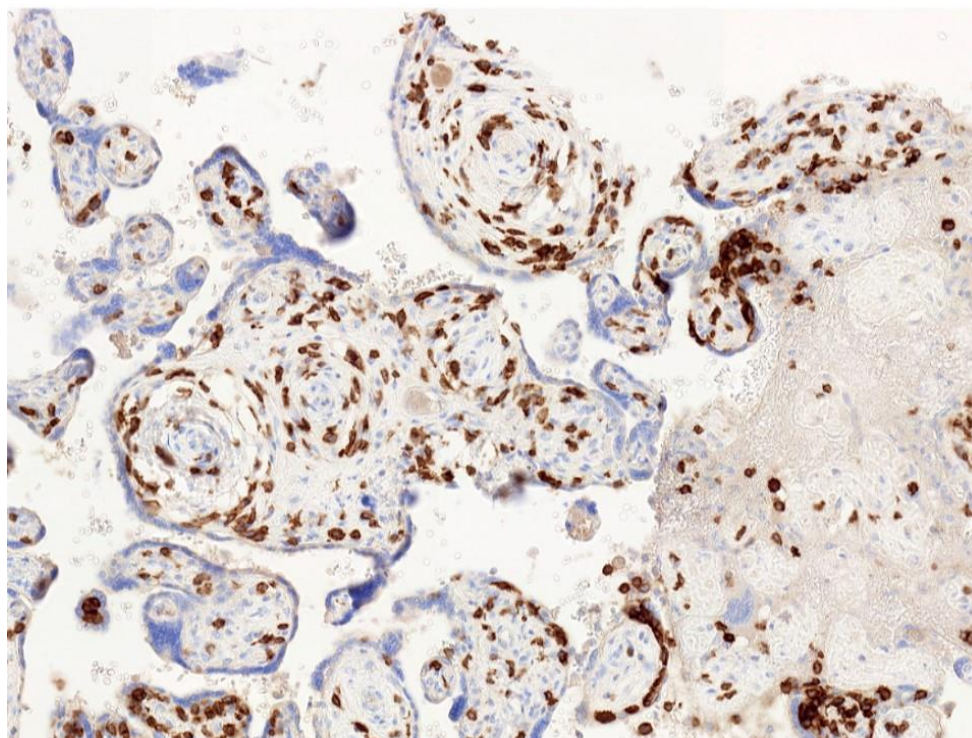
VUE bývá často spojována s dalšími chronickými zánětlivými procesy jako např. chronická chorioamnionitida, lymfoplazmocytická deciduitida nebo eosinofilní T-buněčná fetální vaskulitida. (Redline, 2015)

Obrázek 12 VUE s obliterativní vaskulopatií



Zdroj: M. Dubová, Š. Hadravská – Šiklův ústav patologie FN Plzeň

Obrázek 13 Imunohistochemický průkaz CD8 pozitivních maternálních lymfocytů ve stromatu postižených klků u VUE



Zdroj: M. Dubová, Š. Hadravská – Šiklův ústav patologie FN Plzeň

3.2.2 Chronická chorioamnionitida

Chronická chorioamnionitida bývá častým nálezem v placentách předčasně porozených či potracených plodů. Jde o idiopatický zánět charakterizovaný přítomností mateřských lymfocytů v chorioamniální vrstvě plodových obalů či v choriové plotně. Stejně jako v předchozím případě jde o reakci imunitního systému matky na antigeny plodu. Lymfocytární zánětlivá infiltrace může být prokázána imunohistochemicky (protilátkou proti antigenu CD8). Zánět se může vyskytovat společně s chronickou decidualitidou, ale nejčastěji bývá asociována s vilitidou neznámé etiologie (až v 79 % případů). Vyšší frekvence tohoto zánětu byla zaznamenána u matek trpících diabetem (DM, diabetes mellitus) či hypertenzí. Známá je i asociace s hydropsem plodu, růstovou restrikcí a oligohydramniem (sníženým množstvím plodové vody). (Baergen, 2011)

Pokud jsou v choriové plotně či plodových obalech současně přítomny buňky akutního i chronického zánětlivého infiltrátu, hovoříme o subakutní chorioamnionitidě. (Baergen, 2011)

3.2.3 Eosinofilní/T-buněčná vaskulitida cév choriové plotny

Eosinofilní/T-buněčná vaskulitida (E/TCV) je vzácný chronický zánět postihující velké fetální cévy v choriové plotně (velmi vzácně i cévy kmenových klků). Častěji bývá pozorován v placentách plodů porozených v termínu. Zánětlivý infiltrát je na rozdíl od VUE a dalších idiopatických zánětů tvořený eosinofilními granulocyty a T-lymfocyty fetálního původu. Příčina tohoto zánětu není dosud známá. Léze může být asociována s tvorbou trombů v postižených cévách. (Cheek et al., 2015)

3.2.4 Chronická (lymfoplasmocytární) decidualitida

Jedná se o chronický idiopatický zánět bazální deciduy, který bývá častěji pozorován v placentách mrtvě porozených či potracených plodů. Zánětlivý infiltrát je tvořený lymfocyty a plasmatickými buňkami, jejichž přítomnost může být potvrzena imunohistochemickým barvením protilátkami proti antigenům CD8 a CD138. Zánět častěji komplikuje gravidity z darovaného vajíčka. Vzhledem k časté asociaci s dalšími idiopatickými záněty se předpokládá, že i v tomto případě hraje v etiopatogenezi procesu zásadní roli reakce imunitního systému matky, který reaguje na fetální antigeny přítomné v placentě. (Kim et al., 2015b)

3.2.5 Chronická histiocytární intervilitida

Jedná se o chronický idiopatický zánět postihující intervilózní prostory. Může se vyskytovat izolovaně i v kombinaci s dalšími chronickými záněty neinfekční etiologie. Zánětlivý infiltrát je tvořený převážně CD68 pozitivními mateřskými histiocyty, v menší míře mohou být přítomny i lymfocyty. Tyto histiocyty často adherují na povrch vilózního trofoblastu. Zánět bývá doprovázen množením perivilózního fibrinu, který může patrný již při makroskopickém vyšetření placenty. Tento zánět se častěji vyskytuje v placentách matek trpících autoimunitními chorobami (až 52 %). Riziko rekurence v následujících graviditách je velmi vysoké (67 – 100 %). (Baergen, 2011)

Plody často trpí růstovou retardací, popisována je i horší poporodní adaptace. Léze může být rovněž příčinou nitroděložního odumření plodu (IUFD, Intrauterine fetal death). (Baergen, 2011)

4 VÝZNAM PRO MATKU A PLOD

Akutní i chronické záněty placenty mohou významným způsobem negativně ovlivnit průběh gravidity i postnatální vývoj novorozence.

4.1 Předčasná ruptura plodových obalů (PPROM) a předčasný odtok plodové vody

Předčasná ruptura plodových obalů (PPROM, Preterm Premature Rupture of Membranes) a s ní spojený předčasný odtok plodové vody může komplikovat 3 – 8 % všech gravidit. Tento stav je definován jako porušení plodových obalů před nástupem pravidelné děložní činnosti před 37. týdnem těhotenství. Za jednu z hlavních příčin PPRM jsou považovány akutní záněty placenty (především bakteriální). Při bakteriální infekci dochází k produkci prozánětlivých cytokinů imunitním systémem matky. Do krevního oběhu jsou uvolňovány metaloproteázy a prostaglandiny, které za normálních okolností stimulují děložní kontrakce a podporují maturaci děložního hrdla. Tyto látky však mohou být rovněž zodpovědné za předčasnou rupturu plodových obalů. (Boskabadi a Zakerihamidi, 2018)

Mezi nezánettivé (neinfekční) faktory, které mohou být asociovány s PPRM patří například mechanické poškození či strukturální vada plodových obalů, abusus návykových látek (nikotinismus), choroby matky (diabetes mellitus), abnormality dělohy, krvácení před porodem, vícečetná těhotenství, nevhodná poloha plodu a další. (Boskabadi a Zakerihamidi, 2018)

U infekční etiologie procesu existuje vysoké riziko přestupu infekce na plod, které se úměrně zvyšuje s prodlužující se dobou, která uplynula od prasknutí plodových obalů.

Tento proces může až v jedné třetině případů vést k předčasnému porodu, šíření infekce navíc může být příčinou zánětlivých komplikací ohrožujících plod i matku. (Boskabadi a Zakerihamidi, 2018)

4.2 Předčasný porod

Podle literárních údajů lze akutní záněty (konkrétně chorioamnionitidu) prokázat až v 67 % placent předčasně porozených plodů. (Baergen, 2011) Za předčasný porod je považováno narození dítěte před dokončeným 37. týdnem gravidity. Nedonošené plody jsou vystaveny většímu riziku krátkodobých i dlouhodobých komplikací. Riziko rozvoje

komplikací je nepřímo úměrné gestačnímu stáří plodu. Nejrizikovější kategorii představují extrémně nezralí novorozenci, porození před dokončeným 26. týdnem těhotenství. V poporodním období u nich hrozí rozvoj syndromu dechové tísně, hypotenze, bradykardie či metabolických poruch (např. hypoglykemie). Dále mohou být postiženi krvácením do mozku či nekrotizující enterokolitidou, což jsou stavy, které v řadě případů končí fatálně. Z dlouhodobého hlediska hrozí u těchto novorozenců zpomalený psychomotorický vývoj, může se objevit epilepsie, postižení zraku a sluchu či chronická insuficience plic. (Cakir et al., 2018) Předčasný porod bývá často spojován s akutní chorioamnionitidou, která se vyskytuje až u 67 % placent plodů porozených před 37. týdnem. (Baergen, 2011)

4.3 Postižení plodu

Mezi nejzávažnější komplikace zánětů placenty infekčního původu patří přenos infekce na plod. Cesta přenosu může být hematogenní (z mateřské krve), ale častěji se jedná o infekce ascendentní. U ascendentních bakteriálních zánětů hrozí aspirace infikované plodové vody, která může vést k těžkému zánětlivému postižení plic. U mykotických infekcí může navíc dojít i k postižení kůže. Hematogenní infekce placenty mohou rovněž být spojeny s přenosem infekce na plod. Výsledkem může být těžké postižení včetně vrozených vývojových vad. (Kim et al., 2015a)

Jedním ze závažných následků chronických zánětů placenty je narušení fyziologického psychomotorického vývoje plodu, které může být nenávratné. Zejména těžké formy VUE a CIUE (Chronická intervilositida neznámé etiologie) mohou být příčinou postižení centrálního nervového systému. (Kim et al., 2015b)

4.4 Postižení matky

Akutní záněty infekční etiologie mohou být asociovány s rozvojem endometritidy. Tento akutní zánět děložní sliznice může být provázen bolestmi v oblasti pánve, zvýšenou tělesnou teplotou, leukocytózou či vaginálním výtokem. V případě neléčeného zánětu může dojít k přestupu infekce i na další části děložní stěny a k rozvoji sepse. (Moore, 2019)

Maternální sepse je sice vzácnou ale velmi závažnou komplikací, která může vznikat v souvislosti s akutními záněty placenty. Světová zdravotnická organizace (WHO, World health organisation) definuje maternální sepsi jako život ohrožující stav způsobený infekcí v průběhu těhotenství, při porodu či v poporodním období. Závažnost stavu tkví i

v tom, že počáteční změny mohou být velmi nespecifické a v ojedinělých případech mohou být i zaměněny za změny provázející fyziologickou graviditu (snížení krevního tlaku, zvýšení krevního objemu, zvýšení tepu, vzestup metabolismu). Tento stav je zatížen vysokou maternální mortalitou (až 11 %). Příčinou úmrtí bývá rozvoj multiorgánového selhání a septického šoku. (Parfitt a Hering, 2018)

Riziko chronických zánětů neznámé etiologie spočívá zejména v jejich rekurenci. Vilitida neznámé etiologie se může opakovat v následujících graviditách ve 25 – 50 % případů, u chronické histiocytární intervilitidy dosahuje riziko rekurence až 100 %. (Redline, 2015) Chronické idiopatické záněty placenty (zejména CIUE) mohou být příčinou habituálního potrácení, (Vardi et al., 2017) proto je nutné, aby matky, v jejichž placentách byl tento zánět prokázán, byly během následujících gravidit důkladně sledovány. (Baergen, 2011)

4.5 Fetální růstová restrikce (FGR) plodu

FGR (Fetal growth restriction) neboli fetální růstová restrikce je definována jako patologický stav, při kterém plod není schopen dosáhnout své geneticky podmíněné velikosti. Porodní hmotnost těchto plodů bývá různá. V řadě případů se jedná o plody s porodní hmotností pod 10. percentilem pro dané gestační stáří. V jiných případech se naopak může narodit plod, který převyšuje svou hmotností 10. percentil. (Gami a Rajaram, 2013)

Příčinou mohou být patologické stavy matky i plodu. Neméně významnou příčinou jsou různé placentární poruchy. FGR je obecně spojena s vyšší perinatální morbiditou a mortalitou. Plody často trpí chronickou hypoxií, může dojít k poruše vývoje nervového systému, v nejtěžším případě může být FGR příčinou úmrtí plodu. V pozdějším věku mají přeživší plody větší sklony k hypertenzi, obezitě a diabetu 2. typu. Pokud zůstane FGR neodhalena až do třetího trimestru, může zodpovídat až za 50 % nevysvětlených úmrtí plodu při porodu. Proto je včasná diagnostika velmi významná a pomáhá snížit perinatální mortalitu i morbiditu. (Gami a Rajaram, 2013)

FGR je nutné odlišit od diagnózy SGA (Small for gestational age). Hmotnost plodu s touto diagnózou je rovněž menší než 10. percentil odvozený z hmotnostní křivky pro dané gestační stáří. Toto snížení hmotnosti však nemusí být nutně podmíněno růstovou restrikcí. V nadpoloviční většině případů jde o plody normálně rostoucí, pouze konstitučně malé, např. plody z vícečetných gravidit. U takovýchto plodů nehrozí komplikace jako u

plodů s FGR a po porodu tedy není nutné zahájení intenzivní terapie. (Gami a Rajaram, 2013)

4.6 Spontánní potrat a nitroděložní odumření plodu

Spontánní (nebo též samovolný) potrat je definován jako vypuzení plodu z dělohy před dokončeným 22. týdnem gestace. Pokud stáří plodu nelze jednoznačně určit je definujícím znakem hmotnost plodu nižší než 500 g. (Zwinger, 2004)

Z literatury je známo, že 10 – 15 % těhotenství končí samovolným potratem, přičemž k majoritní většině dochází v prvním trimestru. Příčinami mohou být patologické stavy plodu (chromozomální aberace, degenerativní změny), matky (anomálie děložní dutiny, chronická systémová onemocnění či onemocnění vzniklá během gravidity) i placenty. Placentární záněty bývají příčinou spontánních abortů zejména ve druhém a třetím trimestru gravidity. (Zwinger, 2004)

Zánětlivé změny placenty mohou být příčinou nitroděložního odumření plodu. Na rozdíl od spontánního abortu nemusí být mrtvý plod okamžitě vypuzen z dutiny děložní. Takovéto zamlklé potraty mohou být asociovány s řadou maternálních komplikací, mezi které patří rozvoj infekce či poruchy koagulace. (Mandal et al., 2017)

PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL VÝZKUMU

Cílem bakalářské práce je sumarizovat současné poznatky o zánětlivých procesech postihujících placentu, dále pak zhotovit statistickou analýzu dat získaných z nemocničního informačního systému a porovnat tato data s literárními údaji. Ve sledovaném souboru placent zhodnotit frekvence výskytu zánětlivých lézí a jejich asociace s patologickými stavy provázejícími graviditu.

Cílem praktické části práce je vyhodnotit imunohistochemické barvení a ověřit jeho přínos při vyšetření placent plodů s růstovou restrikcí.

6 VÝZKUMNÉ OTÁZKY, VÝZKUMNÉ PROBLÉMY

1. Kolik placent bylo na Šiklově ústavu patologie vyšetřeno za 1 rok (rok 2017)? Jaké bylo průměrné gestační stáří plodů, jejichž placenty byly vyšetřeny? Kolik placent pocházelo z vícečetných gravidit? Kolik placent mrtvých plodů bylo vyšetřeno?
2. Jaké byly nejčastější histologické nálezy ve vybraném souboru placent?
3. V kolika placentách byly prokázány známky zánětu? V kolika případech byl prokázán zánět akutní a v kolika chronický?
4. Byla v placentách s akutním zánětem prokázána přítomnost infekce? Jaká infekční agens se vykytovala nejčastěji?
5. Měla přítomnost morfoloicky potvrzeného akutního zánětu placenty vliv na bezprostřední poporodní adaptaci plodu?
6. Byly chronické záněty placenty asociované s růstovou restrikcí plodu? Ovlivňoval chronický zánět bezprostřední poporodní adaptaci novorozence? Byly v placentách s morfoloicky potvrzenými chronickými záněty přítomny i další patologické nálezy?
7. Byly v anamnéze matek, v jejichž placentách byl prokázán chronický zánět, informace o předchozích graviditách? Byly chronické záněty placenty u těchto matek prokázány již v minulosti?
8. V kolika případech je klinická diagnóza zánětu ve shodě s diagnózou morfoloickou?
9. Mohlo při konvenčním histologickém vyšetření placenty dojít k přehlédnutí chronického zánětu? Existuje způsob, jak tuto chybu eliminovat?

7 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU

Ze souboru všech placent vyšetřených během jednoho roku na Šiklově ústavu FN Plzeň byla vybrána skupina případů, které splňovaly morfologická kritéria akutního či chronického zánětu. Výsledky histologického vyšetření byly porovnány s dostupnými klinickými údaji a anamnestickými daty získanými z dokumentace.

8 METODIKA PRÁCE

8.1 Výběr sledovaného souboru pacientů

Nejprve byl z nemocničního informačního systému WinMedicalc vygenerován soubor všech placent, které byly vyšetřeny během 1 roku na Šiklově ústavu patologie. Podle laboratorních čísel byl v systému vyhledán histologický nález a klinické informace související s porodem. Předmětem zájmu byly následující klinické údaje: věk matky v době porodu, chronické choroby matky a choroby vzniklé během gravidity, délka gravidity, počet předchozích těhotenství a stav plodu včetně jeho bezprostřední poporodní adaptace.

8.2 Interpretace získaných dat a jejich statistické vyhodnocení

Na základě získaných dat byly nejprve zodpovězeny výzkumné otázky. Následně byla ze souboru všech placent vybrána skupina případů s potvrzenou morfologickou diagnózou zánětu. Patologické nálezy v placentách byly porovnány s dostupnými klinickými informacemi a výsledky byly statisticky zpracovány.

8.3 Výběr vzorků na imunohistochemické vyšetření

Praktická část výzkumu byla zaměřena zejména na chronické idiopatické záněty placenty, které mohou významně komplikovat graviditu a vývoj plodu. Ze současné literatury je známo, že tyto záněty zodpovídají podstatnou měrou za růstovou restrikcí plodu. Z praxe ovšem víme, že někdy může být tento zánět poměrně diskrétní a je tedy šance, že nemusí být v konvenčním barvení hematoxylinem a eosinem spolehlivě rozpoznán. Stanovení správné diagnózy je však velmi důležité, neboť tyto záněty se vyznačují poměrně vysokým rizikem rekurence i v dalších graviditách. Na základě těchto znalostí byla ze souboru všech vyšetřených placent vybrána skupina případů, u nichž byla klinicky prokázána růstová restrikce plodu, ale histologické vyšetření neprokázalo žádné patologické změny. Uchované tkáňové bloky z těchto případů byly vyhledány v archivu a vzorky byly obarveny protilátkami proti antigenům CD8, CD68 a CD138.

8.4 Imunohistochemické barvení

Základním principem imunohistochemických metod je detekce antigenních determinant (epitopů) pomocí základní imunologické vazby protilátky na antigen.

Při využití přímé imunohistochemické metody je primární protilátka označena například enzymem, florochromem, chromoforem atd. Tato protilátka se naváže na detekovaný antigen a díky svému značení je snadno detekovatelná. (Jirkovská, 2017)

Nepřímé imunohistochemické metody jsou sice komplikovanější, ale jejich výhodou je, že mohou být mnohem citlivější. Při nepřímé dvojstupňové metodě se primární protilátka naváže na antigen a na tuto protilátku se následně naváže značená sekundární protilátka. V současnosti se využívá zejména nepřímá avidin-biotinová metoda, kdy se primární protilátka naváže na hledaný antigen, na primární protilátku se naváže sekundární protilátka značená biotinem a na tuto sekundární protilátku se naváže avidin-biotinový komplex označený křenovou peroxidázou. Následnou reakcí s diaminobenzidinem (DAB) dojde ke vzniku barevného produktu. Křenovou peroxidázu lze nahradit alkalickou fosfatázou, poté preparát reaguje s fuchsinovým substrátovým roztokem opět za vzniku barevné reakce. Výsledný preparát se sleduje ve světelném mikroskopu. (Jirkovská, 2017)

K imunohistochemickým reakcím jsou využívány monoklonální i polyklonální protilátky. Polyklonální protilátky, jak název napovídá, jsou produkovány více různými klony B-lymfocytů a díky tomu se váží na více různých epitopů antigenu či antigenů. Monoklonální protilátky jsou naproti tomu produkovány jedním klonem B-lymfocytů a jsou specifické pro jeden epitop.

Postup:

1. Makroskopický popis a odběr vzorků pro histologické vyšetření

Odběru vzorků na histologické (popř. imunohistochemické) vyšetření předchází celkové zhodnocení a makroskopický popis placenty. Popisovány jsou rozměry a hmotnost placentárního disku (po odstřížení pupečníku a plodových obalů), délka, průměr, vinutí a místo inserce pupečníku, barva a celistvost plodových obalů a choriové plotny a dále ložiskové změny a jiné nápadnosti vlastního placentárního parenchymu.

Podle současných doporučení by k histologickému vyšetření měly být odebrány 2 řezy z pupečníku, 1 řez plodových obalů, 3 řezy z centrální části placentárního disku a dále

řezy obsahující makroskopicky viditelné změny. V praxi však bývá zvykem odebírat více vzorků i z placent bez viditelných ložiskových změn. (Khong et al., 2016)

2. Fixace

Cílem fixace biotického materiálu je zastavení biologických pochodů v buňkách a tím zabránění samovolnému rozkladu tkáně vlastními enzymy. Principem fixace je rychlá a pokud možno šetrná denaturace bílkovin v cytoplasmě buněk, tak aby nedošlo k narušení tkáňové struktury, barvitelnosti i antigenicity vzorků. Fixační prostředky jsou dvojího druhu: fyzikální, které jsou v praxi využívány jen omezeně, a chemické, které se používají nejčastěji. Nejběžnějším a široce využívaným fixačním prostředkem je 10% roztok formolu tj. 4% roztok formaldehydu neutralizovaný uhličitanem vápenatým. (Jirkovská, 2017)

3. Zalévání vzorků do parafínu

Fixované vzorky se nejdříve odvodní v lázních se vzestupnou řadou alkoholů (70 %, 80 %, 96 %, 96 %, 96 %), poté se prosytí látkou rozpouštějící parafín (acetonová lázeň, lázeň aceton-xylen, xylen-aceton, 2 xylenové lázně) a nakonec se prosytí parafínem ve dvou parafínových lázních. Takto upravený vzorek se v zalévacím modulu zalévá do čistého přefiltrovaného parafínu. (Jirkovská, 2017)

4. Krájení vzorků

Aby bylo možné hodnotit mikroskopickou strukturu tkáně, je nutné vzorky nejprve nakrájet na dostatečně tenké řezy. Používá se sáňkový nebo rotační mikrotom. V ideálním případě mají výsledné řezy tloušťku 2 - 3 μm . (Jirkovská, 2017)

5. Natažení řezů na sklo

Hotový řez se přenese na hladinu teplé destilované vody (36 °C), odkud se natáhne na čisté podložní sklíčko, které se poté vysuší, aby se zbavilo vody. (Jirkovská, 2017)

6. Odparafinování řezů

Deparafinizace probíhá v xylenové lázni a následně v lázních se sestupnou řadou alkoholů (96 %, 80 %, 70 %). (Jirkovská, 2017)

7. Optimalizace prezentace antigenů

Čím je struktura tkáně díky fixačním postupům lépe zachovaná, tím mohou být původní tkáňové antigeny obtížněji prokazatelné. Tkáňové řezy je proto vhodné před dalším zpracováním speciálně ošetřit. Jednou z možností je částečná digesce tkáně proteolytickými enzymy, jež může obnovit antigenní vlastnosti vzorku. Nejčastěji používanými proteázami v imunohistochemii jsou pepsin či trypsin. Další možností revitalizace antigenních struktur je použití mikrovln. U jednotlivých protilátek je třeba řídit se pokyny výrobce. (Jirkovská, 2017)

8. Blokáda endogenní aktivity enzymů

K imunohistochemickému vyšetření jsou využívány protilátky značené enzymem (peroxidázou, alkalickou fosfatázou). Vzhledem k tomu, že tyto enzymy se vykytují také přirozeně ve tkáních, je předem nutné zablokovat jejich endogenní aktivitu, čímž se zabrání i falešné pozitivitě výsledku. V případě peroxidázy se preparáty inkubují v čerstvém 4% vodném roztoku peroxidu vodíku po dobu 20 minut. Poté se několikrát opláchnou v destilované vodě.

9. Blok pozadí

Příčinou falešné pozitivy může být i nespecifické vychytávání protilátky, ke kterému může dojít např. nespecifickou vazbou primární protilátky na pojivové struktury tkáně v důsledku nekovalentních hydrofobních interakcí, difúzí tkáňových antigenních struktur do okolní tkáně, ale též kontaminací řezů či reagentů cizorodými látkami. Této nežádoucí reakci lze do jisté míry předejít vysycením tkáně bílkoviny. K tomuto účelu může být použito např. 5% odtučněné sušené mléko. Preparáty se v roztoku inkubují 30 minut. Následuje oplach v destilované vodě.

10. Vazba protilátek a detekčního systému

Po osušení preparátů a orámování pomocí speciálního fixu, který zabrání stékání protilátky, následuje vlastní reakce tkáňového antigenu a primární protilátky. Inkubace s primární protilátkou probíhá ve vlhkých inkubačních kazetách při teplotě 2 – 8 °C přes noc. Poté se preparáty opláchnou v PBS (fosfátový) pufru. Následuje proces inkubace spojovací protilátky, který rovněž probíhá ve vlhkých inkubačních kazetách při 37 °C po dobu 45 minut. I po tomto kroku je preparát opláchnut v PBS pufru.

Protože samotná vazba antigenu a protilátky probíhá bez viditelné reakce, je nutné k vizualizaci komplexu použít další látky, tzv. chromogeny. Je-li detekční komplex značený peroxidázou, používá se jako chromogen 3,3'-diaminobenzidin. Inkubace probíhá 1 – 10 minut při pokojové teplotě a poté se preparáty opláchnou destilovanou vodou.

Následuje inkubace s činidlem (Dako Liquid DAB + Substrate – Chromogen System), která trvá 5 – 15 minut a výsledkem je hnědý stabilní produkt, viditelný ve světelném mikroskopu.

11. Nespecifické dobarvení pozadí

Po oplachu preparátů destilovanou vodou následuje proces kontrastování v 5% roztoku modré skalice po dobu alespoň 10 minut. Poté jsou preparáty znovu opláchnuty a dobarveny Gillovým hematoxylinem.

12. Odvodnění preparátů

Po odstranění přebytečného barviva v destilované vodě jsou preparáty odvodněny v lázních se vzestupnou řadou alkoholů a přes aceton, roztok xylen-aceton a roztok aceton-xylen převedeny do xylole. (Jirkovská, 2017)

13. Montování preparátů

Posledním krokem je montování preparátu, při kterém se montovací médium nakape na vyrobený preparát a na něj se přilepí krycí sklíčko. Montovací médium musí mít vysoký index lomu a nesmí měnit zabarvení tkáně. Tyto podmínky splňuje např. látka Pertex. (Jirkovská, 2017)

Po tomto kroku je preparát hotov a lze jej prohlížet pod mikroskopem.

Pro účely naší studie byly k barvení vzorků použity protilátky od firmy Dako, jejichž seznam je uveden Tabulce 4.

Tabulka 4 Seznam protilátek použitých pro vlastní výzkum

Název protilátky	Klon	Použité ředění
CD8	C8/144B	1:50
CD68	KP1	1:200
CD138	MI15	1:500

Zdroj: vlastní

Vlastní imunohistochemické barvení bylo provedeno v barvicím automatu BenchMark ULTRA VENTANA od firmy Roche, který je propojen s počítačem, v němž jsou naprogramovány individuální pracovní protokoly pro jednotlivé protilátky. Pracovní protokoly použitých barvení jsou součástí Příloh A, B a C.

8.5 CD znaky

Diferenční skupina (CD) je označení skupiny epitopů antigenů (část antigenu schopná navázat protilátku), které jsou exprimovány na povrchu všech buněk lidského těla, ale především na buňkách imunitního systému. Vzhledem k tomu, že některé CD znaky jsou specifické pro určitou populaci buněk, lze této vlastnosti využít k jejich detekci.

8.2.1 CD8

Antigen CD8 je heterodimerický transmembránový glykoprotein exprimovaný na povrchu cytotoxických T-lymfocytů. Exprimovaný znak CD8 se skládá ze dvou řetězců: CD8 α a CD8 β . Cytotoxické T-lymfocyty rozpoznávají antigeny MHC I. Třídy (Major histocompatibility complex), které jsou exprimovány na všech jaderných buňkách. Jejich funkcí je hlavně obrana proti nitrobuněčným parazitům (to zahrnuje viry i bakterie) a eliminace nádorových buněk. (Virella, 1998)

V placentární patologii lze tohoto antigenu využít k detekci CD8 pozitivních lymfocytů maternálního původu, které tvoří dominantní komponentu zánětlivého infiltrátu ve stromatu choriových klků u VUE a mohou být i součástí zánětlivého infiltrátu u ostatních chronických zánětů placenty. (Redline, 2015)

8.2.2 CD68

CD68 antigen nebo také macrosialin je transmembránový glykoprotein, který není na rozdíl od CD8 specifický pro jeden typ buněk, ale je exprimován v buňkách obsahujících lysosomy. Díky tomu lze pomocí tohoto antigenu prokázat např. histiocyty (Virella, 1998), které jsou hlavní komponentou zánětlivého infiltrátu u CIUE. (Kim et al., 2015b)

8.2.3 CD138

Znak CD138 známý také jako syndecan-1 je transmembránový glykoprotein exprimovaný na povrchu plazmatických buněk, které vznikají aktivací B-lymfocytů.

Hlavní funkcí B-lymfocytů je produkce protilátek ve formě imunoglobulinů a tím zprostředkování humorální imunologické odpovědi. Také se uplatňují jako APC neboli antigen prezentující buňky – jejich funkcí je vystavení antigenů na svém povrchu pro monocyty nebo makrofágy. (Virella, 1998) Přítomnost plazmatických buněk je definujícím znakem chronické deciduity. (Kim et al., 2015b)

9 VÝSLEDKY

9.1 Celkový počet vyšetřených placent

Během roku 2017 bylo na Šiklově ústavu patologie ve Fakultní nemocnici v Plzni vyšetřeno celkem 413 placent gestačního stáří 12 – 42 týdnů. Průměrné gestační stáří plodů, jejichž placenty byly vyšetřeny, činilo 34,27 týdne.

Ve 32 případech šlo o placenty z vícečetných gravidit. Naprostou většinu případů (31 případů) představovaly placenty dvojčat, pouze v 1 případě šlo o placenty trojčat. Přehled jednotlivých typů placent z vícečetných gravidit je popsán v Tabulce 5

20 placent patřilo mrtvým plodům. V 7 případech šlo o spontánní potrat, zatímco v 8 případech byl potrat indukovaný. 5 případů představovaly placenty mrtvě rozených plodů.

Tabulka 5 Četnost vícečetných gravidit

		Počet případů
Dvojčetná gravidita		31
	Monochoriální-monoamniální	1
	Monochoriální-biamniální	11
	Bichoriální-biamniální	19
Trojčetná gravidita		1
	Bichoriální-triamniální	1

Zdroj: vlastní

9.2 Spektrum nálezů

Ve vyšetřeném souboru bylo prokázáno celkem 42 různých patologických změn (diagnóz). V řadě případů byl v jedné placentě přítomen více než 1 patologický nález. Vyskytly se však i případy bez patologického nálezu (86 případů). Nejčastějším nálezem v placentách byla chorioamnionitida, která byla prokázána ve 126 případech, což činí 21,32 %. Jednotlivé morfologické nálezy a jejich četnost jsou uvedeny v Tabulce 6. Spektrum nejčastějších nálezů zobrazuje Graf 1.

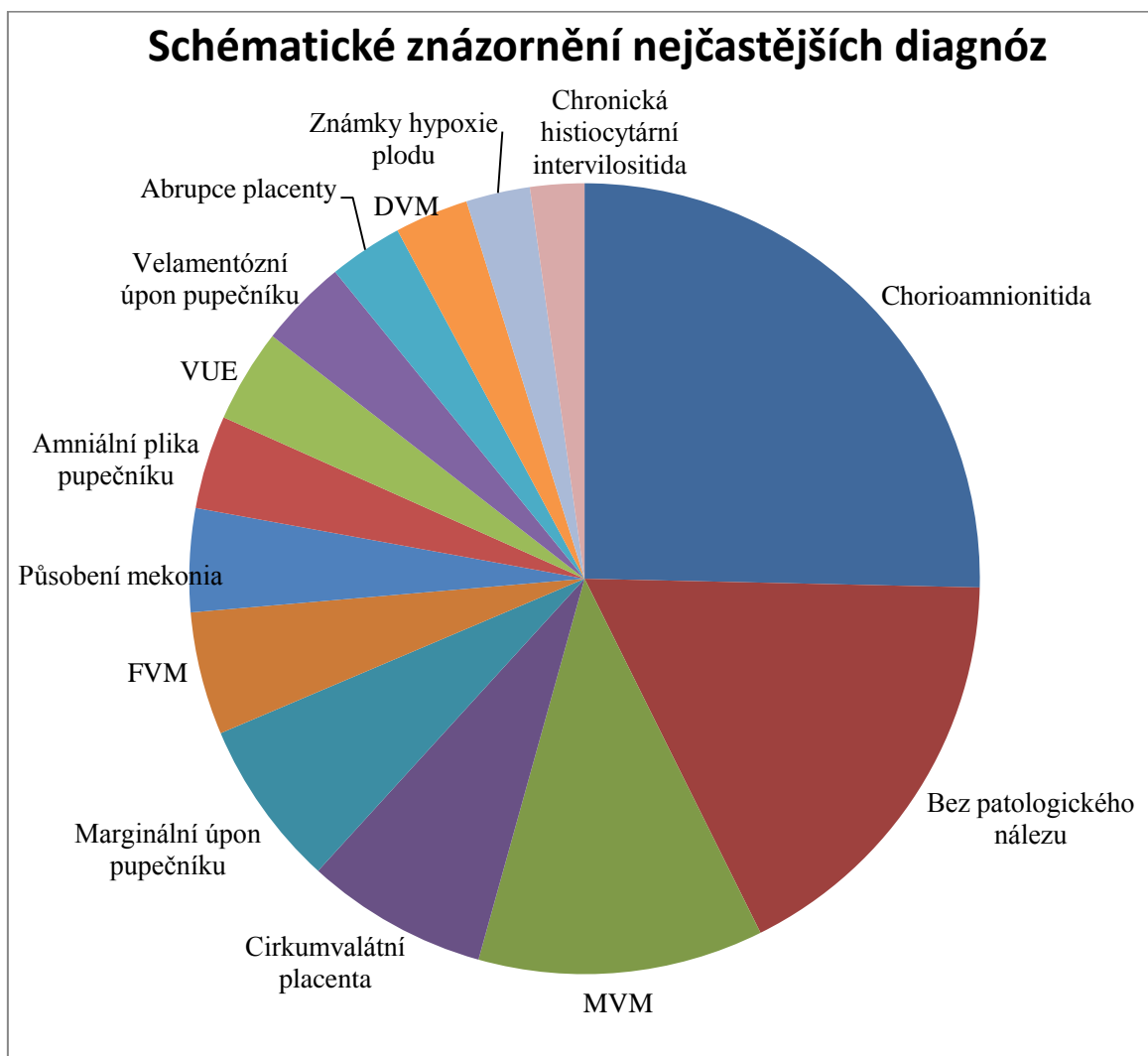
Tabulka 6 Spektrum nálezů popsaných ve vyšetřovaném souboru

Diagnóza	Počet případů	Procentuální zastoupení (z diagnóz)	Procentuální zastoupení (z placent)
Chorioamnionitida	126	21,32 %	30,51 %
Bez patologického nálezu	86	14,55 %	20,82 %
Maternální vaskulární malperfúze (MVM)	58	9,81 %	14,04 %
Cirkumvalátní placenta (kompletně cirkumvalátní, částečně cirkumvalátní)	37	6,26 %	8,96 %
Marginální úpon pupečníku	34	5,75 %	8,23 %
Fetální vaskulární malperfúze (FVM)	25	4,23 %	6,05 %
Působení mekonie	21	3,55 %	5,08 %
Amniální plika pupečníku	19	3,21 %	4,60 %
Vilitida neznámé etiologie (VUE)	19	3,21 %	4,60 %
Velamentózní úpon pupečníku	18	3,05 %	4,36 %
Abrupce placenty (centrální/retroplacentární hematom)	15	2,54 %	3,63 %
Opožděná maturace choriových klků (DVM)	15	2,54 %	3,63 %
Známky hypoxie plodu	13	2,20 %	3,15 %
Chronická histiocytární intervilitida	11	1,86 %	2,66 %
Akutní marginální abrupce placenty	9	1,52 %	2,18 %
Aksesorní lalok placenty	8	1,35 %	1,94 %
Abnormální vinutí pupečníku (nadměrné/minimální)	7	1,18 %	1,69 %
Masivní depozita perivilózního fibrinu (MPFD)	7	1,18 %	1,69 %
Retromembranózní hematom	7	1,18 %	1,69 %
Deciduitida	6	1,02 %	1,45 %
Chorangiom	5	0,85 %	1,21 %

Interpoziční úpon pupečníku	5	0,85 %	1,21 %
Single umbilical artery (SUA) (atrofie, aplázie)	4	0,68 %	0,97 %
Pravý uzel pupečníku	4	0,68 %	0,97 %
Inkompletní spodina placenty	4	0,68 %	0,97 %
(Sub)choriální cysty plodových obalů a placenty	3	0,51 %	0,73 %
Bilobární placenta (<i>Placenta biloba</i>)	2	0,34 %	0,48 %
Disekce plodových obalů	2	0,34 %	0,48 %
Hemosideróza plodových obalů	2	0,34 %	0,48 %
<i>Placenta increta</i>	2	0,34 %	0,48 %
<i>Placenta succenturiata</i>	2	0,34 %	0,48 %
<i>Placenta zonaria</i>	2	0,34 %	0,48 %
Subchoriální hematom/trombus	2	0,34 %	0,48 %
Změny při aneuploidii (dysmorfické choriové klky)	2	0,34 %	0,48 %
Atypický průběh choriálních cév	1	0,17 %	0,24 %
Fokální chorangiomatóza	1	0,17 %	0,24 %
Hypervaskularizace choriových klků	1	0,17 %	0,24 %
Ruptura fetální cévy traverzující plodové obaly	1	0,17 %	0,24 %
Subamniální hematom	1	0,17 %	0,24 %
Twin-to-twin tranfusion syndrome (TTTS)	1	0,17 %	0,24 %
Akutní vilitida	1	0,17 %	0,24 %
Změny po nitroděložní odúmrti plodu	1	0,17 %	0,24 %
Twin reversed arterial perfusion sequence (TRAP)	1	0,17 %	0,24 %

Zdroj: vlastní

Graf 1 Schématické znázornění nejčastějších diagnóz



Zdroj: vlastní

9.3 Případy s prokázaným zánětem

Ve vyšetřeném souboru bylo ve 147 placentách prokázáno celkem 163 zánětlivých změn. V některých placentách byl přítomen více než 1 typ zánětu, přičemž každý z těchto typů byl hodnocen individuálně. Převažovaly záněty akutní, konkrétně chorioamnionitida, která představovala téměř 77 % všech zánětlivých změn. Zastoupení jednotlivých typů ve vyšetřovaném souboru zánětů shrnuje Tabulka 7.

Tabulka 7 Zánětlivé změny ve vyšetřeném souboru placent

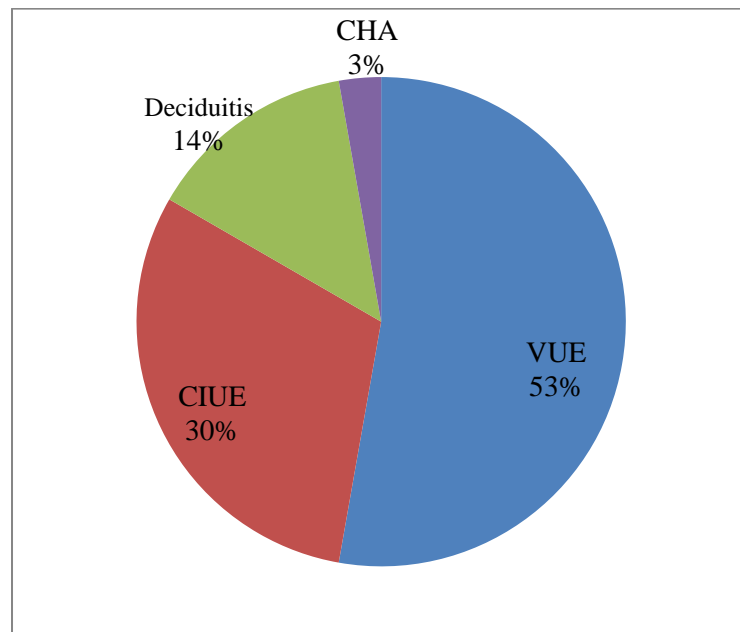
	Morfologická diagnóza	Počet potvrzených zánětů	Zastoupení v souboru všech vyšetřených placent	Zastoupení v počtu zánětlivých změn
Záněty placenty		163		
Akutní		127		77,91 %
	Chorioamnionitida	125	30,27 %	76,69 %
	Deciduitida	1	0,24 %	0,61 %
	Vilitida	1	0,24 %	0,61 %
Chronické		36		22,09 %
	VUE	19	4,60 %	11,66 %
	CIUE	11	2,66 %	6,75 %
	Deciduitida	5	1,21 %	3,07 %
	Chorioamnionitida	1	0,24 %	0,61 %

Zdroj: vlastní

Zkratky: CIUE = chronická intervilitida neznámé etiologie; VUE = vilitida neznámé etiologie

Chronické záněty placenty byly prokázány 36x a reprezentovaly tedy 22 % všech zánětlivých změn. Nejčastějším chronickým zánětem byla VUE, za níž následovala chronická histiocytární intervilitida. Chronická lymfoplasmocytární decuduitida a chronická chorioamnionitida byly prokázány pouze v malém procentu případů. V žádném z uvedených případů nebyla prokázána infekční etiologie procesu. Procentuální zastoupení jednotlivých typů chronických placentárních zánětů je uvedeno v Grafu 2.

Graf 2 Procentuální zastoupení jednotlivých diagnóz chronických zánětů



Zdroj: vlastní

Zkratky: CIUE = chronická intervilitida neznámé etiologie; CHA = chorioamnionitida; VUE = vilitida neznámé etiologie

9.4 Infekční agens u akutních zánětů

V etiopatogenezi akutních zánětů placenty hrají důležitou roli ascendentní (vzácněji hematogenní) infekce. Při klinickém podezření na akutní zánět jsou proto často odesílány vzorky z placenty na mikrobiologické vyšetření.

Ve sledovaném souboru byl akutní zánět prokázán ve 126 případech (v 1 případě se vyskytovaly v placentě 2 různé typy zánětů – akutní vilitida a hnisavá deciduitida, a proto byly v celkovém kontextu hodnoceny individuálně). Infekční agens bylo prokázáno ve vzorcích z 50 placent (v 6 případech byla v jedné placentě prokázána dvě infekční agens a v 1 případě dokonce 3 infekční agens, což činí celkem 58 pozitivních nálezů) tedy téměř ve 40 % případů. U 67 placent s morfologickými známkami akutního zánětu nebyl prokázán žádný patogen. Ve zbylých 9 případech nebylo kultivační vyšetření provedeno.

Nejčastějším infekčním činitelem byly koaguláza negativní Stafylokoky, následovala *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* a *Streptococcus agalactiae*. Seznam všech prokázaných infekčních agens seřazených dle četnosti výskytu je uveden v Tabulce 8.

Tabulka 8 Infekční agens u akutních zánětů

Infekční agens	Počet nálezů	Procentuální zastoupení nálezů v celkovém počtu akutních zánětů	Procentuální zastoupení v počtu pozitivních nálezů
<i>Staphylococcus koaguláza negativní</i>	10	7,94 %	17,24 %
<i>Escherichia coli</i>	8	6,35 %	13,79 %
<i>Enterococcus faecalis</i>	7	5,56 %	12,07 %
<i>Streptococcus agalactiae</i>	6	4,76 %	10,34 %
<i>Streptococcus anginosus</i>	5	3,97 %	8,62 %
<i>Bacteroides vulgatus</i>	3	2,38 %	5,17 %
<i>Gardnerella vaginalis</i>	3	2,38 %	5,17 %
<i>Peptostreptococcus species</i>	3	2,38 %	5,17 %
<i>Bacteroides fragilis</i>	2	1,59 %	3,45 %
<i>Bacteroides uniformis</i>	2	1,59 %	3,45 %
<i>Candida albicans</i>	2	1,59 %	3,45 %
<i>Prevotella bivia</i>	2	1,59 %	3,45 %
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	2	1,59 %	3,45 %
<i>Bacteroides thetaiotamicron</i>	1	0,79 %	1,72 %
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0,79 %	1,72 %
<i>Propionibacterium acnes</i>	1	0,79 %	1,72 %

Zdroj: vlastní

9.5 Apgar skóre u akutních zánětů

K hodnocení bezprostřední poporodní adaptace novorozence je využíván bodovací systém známý jako Apgar skóre. Tato metoda byla popsána v roce 1953 americkou lékařkou Virginií Apgarovou. Skóre je vyjádřeno třemi čísly v rozpětí od 0 do 10, které je součtem hodnot zjištěných v 1., 5. a 10. minutě života novorozence. Hodnotí se 5 kritérií: srdeční akce, dýchání, reakce na podráždění, svalový tonus a barva pokožky dítěte,

přičemž každé dítě je hodnoceno 0 – 2 body. (Apgar 1953) Prognosticky je významné skóre především v páté minutě. Za fyziologickou adaptaci je považováno skóre 8 – 10. Skóre pod 7, resp. pod 3 body, je známkou porodní hypoxie/asfyxie. (Muntau, 2009)

U všech 126 případů placent s potvrzenou diagnózou akutního zánětu byly v nemocničním informačním systému WinMedicalc vyhledány údaje o bezprostřední poporodní adaptaci novorozence. V 7 případech nebylo Apgar skóre hodnoceno, neboť šlo o plody, které byly potraceny, resp. mrtvě porozeny (ve 4 případech šlo o indukovaný potrat, ve 3 případech o spontánní potrat/porod mrtvého plodu).

Pouze ve 2 případech došlo k smrti novorozence krátce po porodu. V obou případech se jednalo o extrémně nezralé novorozence, v jejichž placentách byl přítomen těžký zánět již s vyjádřenou fetální zánětlivou odpovědí. V jednom z případů byly v placentě dále známky maternální vaskulární malperfúze (MVM). Podrobné údaje o těchto plodech jsou uvedeny v Tabulce 9.

Tabulka 9 Údaje o plodech, které zemřely po porodu

Pohlaví plodu	Gestační stáří	Porodní hmotnost (g)/ délka (cm)	Apgar skóre	Zánětlivá odpověď (M= maternální, F=fetální)	Kultivační vyšetření	Další nález
♀ (č. 132)	25 t. + 6 d.	850/36	1,0,0	M: stage 3, grade 2 F: stage 2, grade 1	<i>Escherichia coli</i>	MVM, marginální úpon pupečníku
♀ (č. 70)	23 t. + 5 d.	520/neměřeno	1,1,1	M: stage 2, grade 2 F: stage 1, grade 1	<i>Bacteroides fragilis</i>	Bez dalšího nálezu

Zdroj: vlastní

Zkratky: d. = den; F = Plod; M = Matka; MVM = Maternální vaskulární malperfúze; t. = týden

Ve 21 případech je Apgar skóre v první minutě po porodu nižší než 7, což vypovídá o zhoršeném stavu novorozence. V 15 případech došlo do páté minuty po porodu ke zvýšení Apgar skóre na hodnoty 7 a vyšší. Ve zbylých 6 případech došlo ke zvýšení na hodnoty 7 a více do desáté minuty po porodu. Ve 14 z 21 případů byly v placentách přítomny známky fetální zánětlivé odpovědi (umbilikální vaskulitida, vaskulitida choriálních cév), v 1 případě se jednalo o placentu se známkami akutní vilitidy a hnisavé deciduitidy.

Z údajů vyplývá, že akutní záněty placenty se jako takové signifikantně nepodílejí na zhoršené poporodní adaptaci plodu. Pokud jsou však v placentě již vyjádřeny známky fetální zánětlivé odpovědi, lze tuto horší adaptaci předpokládat.

U extrémně nezralých novorozenců může být těžký akutní zánět placenty s vyjádřenou fetální odpovědí příčinou smrti.

9.6 Apgar skóre a další diagnózy u chronických zánětů

Bezprostřední poporodní adaptace novorozenců nebyla signifikantně ovlivněna ani chronickými záněty. Pouze ve 4 případech bylo Apgar skóre v 1. minutě života nižší než 7. Ve 3 z těchto případů došlo ke zvýšení Apgar skóre na hodnoty 7 a více v 5. minutě po porodu, v 1 případě až v 10. minutě po porodu. U posledního jmenovaného případu byly v placentě prokázány známky vilitidy neznámé etiologie a chronické histiocytární intervilitidy a dále byla přítomna amniální plika pupečníku. Je tedy pravděpodobné, že kombinace těchto patologických nálezů mohla ovlivnit poporodní adaptaci plodu.

Chronické záněty placenty byly v 21 případech (75 %) asociovány s dalšími patologickými nálezy. Výčet všech chronických zánětů včetně asociovaných diagnóz a bezprostřední poporodní adaptace plodu je shrnut v Tabulce 10.

Tabulka 10 Chronické záněty placenty, asociované diagnózy a bezprostřední poporodní adaptace plodu

č. placenty	Diagnóza	Apgar skóre
14	částečně circumvalátní placenta, VUE , CIUE	6,8,9
54	CHA , VUE	10,10,10
64	VUE	10,10,10
71	VUE	10,10,10
77	circumvalátní placenta, VUE , CIUE	10,10,10

85	CHA, CIUE	Neměřeno – indukovaný abortus
107	VUE, CIUE, FVM	9,10,10
122	CHA, chronická deciduitida	8,8,8
135	VUE, CIUE	10,10,10
144	CHA, VUE	10,10,10
177	CIUE	10,10,10
188	VUE	10,10,10
203	VUE, FVM, velamentózní úpon pupečníku	10,10,10
223	retroplacentární hematomy, VUE, CIUE	8,8,9
224	VUE, CIUE, amniální plika pupečníku	2,6,8
247	VUE, DVM	8,9,9
248	CIUE, MVM	10,10,10
264	částečně circumvalátní placenta, VUE	10,10,10
279	MVM, VUE, CHA	6,7,8
294	MVM, FVM, CIUE	9,9,9
300	chronická chorioamnionitida , marginální úpon pupečníku	10,10,10
301	CHA, chronická deciduitida	10,10,10
318 (B)	mono-bi, placenta B - VUE, marginální úpony obou pupečníků	9,10,10
325	VUE, chronická deciduitida	8,9,9
345	CHA, chronická deciduitida	10,10,10
348 (A)	bi-bi, placenta A - CIUE, MVM	8,9,9
378	VUE, chronická deciduitida , FVM	10,10,10
397 (B)	bi-bi, placenta B - VUE	6,8,10

Zdroj: vlastní

Zkratky: bi-bi = dvojčata bichoriální-biamniální; CIUE = chronická histiocytární intervilosita; FVM = fetální vaskulární malperfúze; CHA = chorioamnionitis acuta, akutní chorioamnionitida; mono-bi = dvojčata monochoriální-biamniální; MVM = maternální vaskulární malperfúze; VUE = vilitida neznámé etiologie

9.7 Asociace chronických zánětů s fetální růstovou restrikcí

Z literatury je známo, že chronické záněty placenty mohou být příčinou fetální růstové restrikce (FGR), což je patologický stav, při kterém plod není schopen dosáhnout své geneticky podmíněné velikosti. Porodní hmotnost plodů s FGR je často pod 10. percentilem pro dané gestační stáří. FGR je obecně spojena s vyšší fetální morbiditou a mortalitou.

Ve vyšetřeném souboru placent se fetální růstová restrikce vyskytovala u 71 plodů. Ve skupině chronických zánětů byla FGR prokázána 10x, tj. ve 35,71 %. Údaje o těchto případech jsou uvedeny v Tabulce 11.

Tabulka 11 Chronické záněty asociované s růstovou restrikcí plodu

č. placenty	Gestační stáří	Klinická diagnóza	Patologická diagnóza
54	39 t. + 0 d.	FGR	CHA, VUE
64	40 t. + 0 d.	FGR, hypoxie plodu	VUE
135	34 t. + 6 d.	preeklampsie/eklampsie, FGR	VUE, CIUE
203	36 t. + 6 d.	PPROM, FGR, gestační DM, sclerosis multiplex	VUE, FVM, velamentózní úpon pupečníku
224	32 t. + 4 d.	FGR, anhydramnion	VUE, CIUE, amniální plika pupečníku
247	37 t. + 1 d.	FGR, suspektní CTG	VUE, DVM
248	36 t. + 2 d.	FGR, PPROM, hrozící hypoxie plodu	CIUE, MVM
279	28 t. + 4 d.	FGR, zelená voda plodová	MVM, VUE, CHA
294	33 t. + 2 d.	FGR, hrozící hypoxie plodu	MVM, FVM, CIUE
301	40 t. + 1 d.	FGR	CHA, chronická deciduitida

Zdroj: vlastní

Zkratky: CIUE = chronická histiocytární intervilitida; d. = den; DVM = zpožděná zralost choriových klků (delayed villous maturation); FGR = fetální růstová restrikce; FVM = fetální vaskulární malperfúze; CHA = akutní chorioamnionitida; MVM = maternální vaskulární malperfúze; PPROM = předčasná ruptura plodových obalů (preterm premature rupture of membranes); t. = týden; VUE = vilitida neznámé etiologie

Z Tabulky 11 je patrné, že nejčastějším nálezem byla VUE, která se pouze v 1 případě vyskytovala izolovaně a ve zbývajících 6 případech byla asociována s dalším patologickým nálezem. CIUE byla prokázána ve 4 případech, vždy v asociaci s další patologickou lézí. Chronická deciduitida byla u plodu s FGR prokázána pouze jednou.

9.8 Anamnéza matky u chronických zánětů

U všech 28 případů s prokázaným chronickým zánětem jsme se důkladněji zaměřili na anamnézu matky. Suspektní anamnestická data byla prokázána u 14 matek.

7 matek v minulosti prodělalo spontánní potrat (v 5 případech šlo o 1 spontánní abortus, v 1 případě o 2 spontánní potraty a v 1 dokonce o 5 předchozích abortů). 4 z těchto matek navíc v minulosti porodily předčasně (jednalo se o porody ve 26. - 36. týdnu gravidity) a 2 z nich v minulosti porodily plody v termínu, přičemž hmotnost těchto plodů byla pod 25. percentilem pro dané gestační stáří.

Plody s hmotností pod 25. percentilem se narodily i ve 3 dalších případech. V 1 dalším případě byla hmotnost plodu extrémně nízká (pod 3. percentilem pro dané gestační stáří). V 1 dalším případě byl v anamnéze matky údaj o předčasném porodu.

Autoimunitní choroby matky se vyskytly ve 2 případech. Šlo o celiakii a *sclerosis multiplex*.

Bohužel ani v jednom z případů, nebyl k dispozici bioptický materiál, který by bylo možné zrevidovat a prokázat tak eventuální přítomnost chronického zánětu.

Přesto však na základě anamnestických údajů lze vyslovit podezření, že se v několika případech mohl zánět projevit již v předchozím těhotenství a mohl vést k výše uvedeným komplikacím.

9.9 Shoda klinických diagnóz s patologickými nálezy

Dalším úkolem bylo určení shody mezi klinickými a patologickými diagnózami zánětů. Ani v jednom případě nebylo klinicky vysloveno podezření na chronický zánět placenty. Diagnóza akutní chorioamnionitidy však na klinických průvodkách k bioptickému vyšetření figurovala velmi často.

Klinicky byla diagnóza akutní chorioamnionitidy stanovena v 72 případech, přičemž v 56 případech tento nález pozitivně koreloval s morfologickým nálezem (77,77 %). Histologické vyšetření navíc prokázalo dalších 69 případů akutní chorioamnionitidy či akutní subchorionitidy a 1 případ akutní vilitidy a hnisavé decidualitidy, u nichž tuto diagnózu klinici nepředpokládali.

Tabulka 12 uvádí seznam všech případů s klinickou diagnózou chorioamnionitidy, které byly porovnány s diagnózou morfologickou.

Tabulka 12 Srovnání klinické diagnózy chorioamnionitidy s morfolo­gickým nálezem

č. placenty	Klinická diagnóza	Morfolo­gická diagnóza	Shoda
7	Abrupce placenty, CHA	FVM	ne
18	CHA	CHA	ano
23	PPROM, CHA	Placenta succenturiata	ne
30	Polyhydramnion, CHA	CHA	ano
31	CHA, Alterace ozev plodu	CHA	ano
37	CHA, Zelená plodová voda	CHA	ano
43	CHA, Zelená plodová voda	Marginální abrupce placenty, DVM, CHA	ano
50	CHA, Pupečník kolem krku plodu	CHA	ano
63	Inkompetence hrdla děložního, CHA	Bez patologického nálezu	ne
65	Elevace zánětlivých parametrů	Částečně circumvalátní placenta, CHA	ano
70	PPROM, CHA, Akutní appendicitis	CHA	ano
71	CHA	VUE	ne
74	CHA	CHA	ano
79	Incipientní CHA	CHA	ano
86	CHA	CHA	ano
87	CHA	Částečně circumvalátní placenta, CHA	ano
88	CHA, PPKP	CHA, Amniální plika pupečníku	ano
96	CHA, Zelená voda plodová, Pupečník kolem krku plodu	FVM, CHA	ano
105	Indukovaný abortus, CHA	Částečně circumvalátní placenta, CHA	ano
113	CHA	CHA	ano
117	PPROM, CHA	CHA	ano
124	Zelená voda plodová, CHA	CHA, Změny po působení mekonie	ano
125	CHA	CHA	ano
137	Zelená voda plodová, CHA	CHA	ano
139	PPROM, CHA	CHA	ano
144	Hrozící hypoxie plodu, CHA	CHA, VUE	ano
146	Zelená voda plodová, CHA	Bilobární placenta, CHA, DVM, Změny po působení mekonie	ano

148	CHA	CHA	ano
158	Gestační DM, Obezita, CHA, Pupečník kolem krku plodu	CHA, Hypervaskularizace choriových klků	ano
160	Zelená voda plodová, CHA	Bez patologického nálezu	ne
168	CHA	CHA	ano
171	CHA, Zelená voda plodová, Alterace ozev plodu	CHA, FVM	ano
176	CHA	CHA, Amniální plika pupečníku	ano
190	CHA	CHA, Marginální abrupce placenty	ano
194	PPROM, CHA	CHA	ano
201	CHA	Částečně circumvalátní placenta, CHA	ano
209	CHA	Atypický průběh choriálních cév	ne
210	CHA	MVM	ne
218	CHA	CHA, Marginální úpon pupečníku	ano
225	CHA, Abusus drog, HCV	DVM, CHA	ano
226	PPROM, CHA, FGR	CHA	ano
227	PPROM, CHA	Bez patologického nálezu	ne
228	PPROM, CHA, Nikotinismus	Částečně circumvalátní placenta, CHA	ano
231	CHA	Bez patologického nálezu	ne
238	CHA, Suspektní CTG	Změny po působení mekonía	ne
239	CHA	CHA	ano
243	CHA, Oligohydramnion	CHA	ano
262	CHA, Hrozící hypoxie plodu	CHA	ano
268	CHA, Gestační hypertenze, Hrozící hypoxie plodu	CHA	ano
283	CHA	CHA, Změny po působení mekonía	ano
286	CHA	CHA, Interposiční úpon pupečníku	ano
290	CHA	CHA	ano
291	CHA	CHA	ano
302	CHA	Částečně circumvalátní placenta	ne
322	CHA, Gestační hypertenze, Preeklampsie, Obezita	CHA, MVM	ano
323	PPROM, CHA, FGR	CHA, MVM	ano
324	Zelená voda plodová, CHA, Placenta praevia	CHA	ano
330	CHA	CHA	ano

331	CHA	CHA	ano
338	CHA	Bez patologického nálezu	ne
343	PPROM, CHA	Dva akcesorní laloky placenty	ne
350	CHA	Změny po působení mekonia	ne
355	PPROM, CHA	Částečně circumvalátní placenta, CHA, Retromembranosní hematom	ano
356	Zelená voda plodová, CHA	CHA, Marginální úpon pupečníku	ano
357	CHA	Částečně circumvalátní placenta, CHA, Znamky hypoxie plodu	ano
369	CHA	Částečně circumvalátní placenta, CHA	ano
370	CHA	CHA	ano
374	CHA, Hrozící hypoxie plodu, Hypertenze, Preeklampsie, Gestační DM	CHA, Znamky hypoxie plodu	ano
376	Zelená voda plodová, CHA	Částečně circumvalátní placenta, Změny působení mekonia	ne
384	CHA, Placenta adherens, Revmatoidní artritida matky	CHA	ano
393	CHA	Bez patologického nálezu	ne
395	CHA, Alterace ozev plodu	CHA	ano

Zdroj: vlastní

Zkratky: DM = diabetes mellitus; DVM = Zpožděná zralost choriových klků; FGR = fetální růstová restrikce; FVM = fetální vaskulární malperfúze; CHA = akutní chorioamnionitida; MVM = maternální vaskulární malperfúze; PPKP = poloha podélná koncem pánevním; PPRM = předčasná ruptura plodových obalů; VUE = vilitida neznámé etiologie

9.10 Imunohistochemické vyšetření placent s diagnostikovanou FGR bez morfoloického nálezu

Posledním úkolem praktické části výzkumu bylo ověření správnosti morfoloických diagnóz. Ze skupiny všech placent byly vybrány případy, u kterých byla přítomna FGR, ale vyšetření placenty neprokázalo změny, které by mohly s FGR souviset. Jednalo se o soubor 15 placent.

Vzhledem k tomu, že výsledky statistického vyšetření potvrdily poměrně významnou roli chronických zánětů v etiopatogenezi fetální růstové restrikce, vyslovili jsme hypotézu, že i v některém z těchto vybraných případů mohl figurovat chronický

zánět, který se ovšem v konvenčním barvení hematoxylinem a eosinem nepodařilo prokázat. Z praxe je totiž známo, že některé tyto záněty mohou být poměrně diskrétní a nemusejí se vyskytovat ve všech vyšetřených tkáňových řezech.

Proto byly všechny vybrané případy vyhledány v archivu a vzorky byly obarveny sérií protilátek proti antigenům CD8, CD68 a CD138.

Pouze v 1 (6,66 %) z 15 vybraných vzorků byla ve stromatu choriových klků prokázána přítomnost CD8 cytotoxických T-lymfocytů, což je diagnostický znak vility neznámé etiologie. Tyto CD8 pozitivní lymfocyty se vyskytovaly ve skupinách méně než 10 sousedících choriových klků a to pouze v jednom vyšetřeném tkáňovém řezu. Tyto skupiny postižených choriových klků byly rozptýleny disperzně při bazální decidui, v centru placenty i pod choriovou plotnou. Přítomnost CD68 pozitivních histiocytů v intervilózních prostorách nebo CD138 pozitivních plasmatických buněk v bazální decidui u tohoto případu prokázána nebyla. V ostatních vzorcích nebyly imunohistochemicky prokázány známky chronických zánětů placenty a ani konvenčním vyšetřením se nepodařilo prokázat příčinu FGR. Lze předpokládat, že v těchto případech se na etiopatogenezi tohoto stavu podílely jiné změny, např. některé maternální či fetální patologické stavy, o jejichž přítomnosti nebyl patolog informován.

V Tabulce 13 je uveden seznam vyšetřených placent, včetně morfologické diagnózy a výsledků imunohistochemického vyšetření.

Tabulka 13 Placenty, u nichž nebyly prokázány změny vedoucí k FGR

č. placenty	Klinická diagnóza	Morfologická diagnóza	Výsledky imunohistochemického vyšetření
5	FGR	Bez patologického nálezu	CD8 -, CD68 -, CD138 -
10	FGR	Bez patologického nálezu	CD8 -, CD68 -, CD138 -
25	FGR	Částečně circumvalátní placenta, Akcesorní lalok placenty	CD8 -, CD68 -, CD138 -
36	FGR	Bez patologického nálezu	CD8 -, CD68 -, CD138 -
73	FGR	Bez patologického nálezu	CD8 -, CD68 -, CD138 -
161	FGR	Bez patologického nálezu	CD8 -, CD68 -, CD138 -
185 (B)	FGR	Bez patologického nálezu	CD8 -, CD68 -, CD138 -
208	FGR	Bez patologického nálezu	CD8 -, CD68 -, CD138 -
220	FGR	Bez patologického nálezu	CD8 -, CD68 -, CD138 -
229	FGR	Bez patologického nálezu	CD8 + , CD68 -, CD138 -
266 (A)	FGR	Velamentózní úpon pupečníku	CD8 -, CD68 -, CD138 -

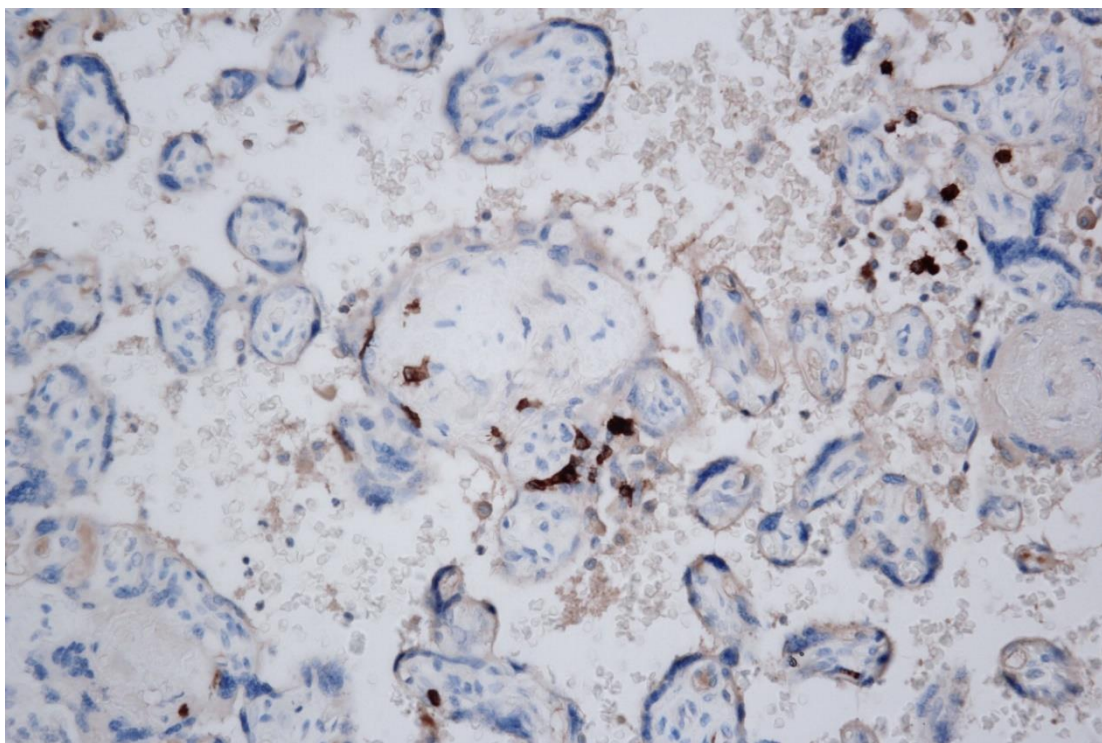
273	FGR	Akcesorní lalok placenty	CD8 -, CD68 -, CD138 -
296	FGR	Bez patologického nálezu	CD8 -, CD68 -, CD138 -
309	FGR	Bez patologického nálezu	CD8 -, CD68 -, CD138 -
379	FGR	Známky po působení mekonia, Marginální úpon pupečníku	CD8 -, CD68 -, CD138 -

Zdroj: vlastní

Zkratky: CD = cluster of differentiation; FGR = fetální růstová restrikce

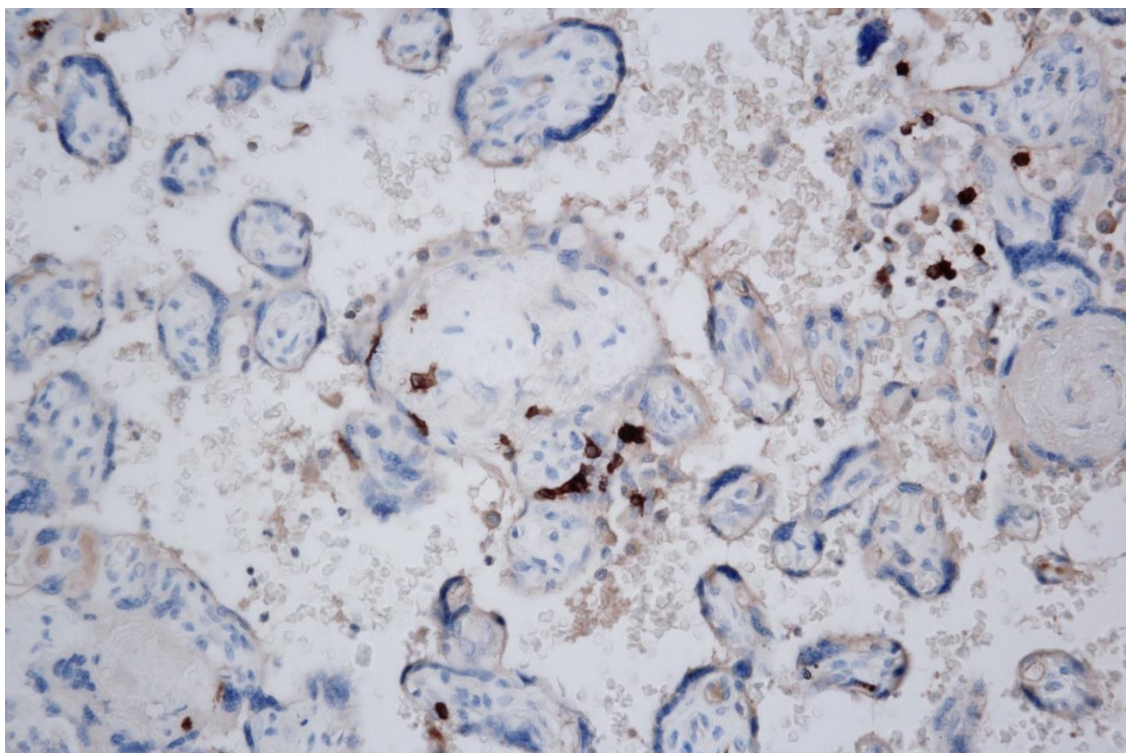
Ačkoli je tento výzkum zatížen malou velikostí vyšetřovaného souboru, lze na základě výsledků doporučit imunohistochemické vyšetření antigenů CD8, CD68 a CD138 v neobjasněných případech fetální růstové restrikce.

Obrázek 14 VUE prokázána přítomností CD8 pozitivních T-lymfocytů



Zdroj: M. Dubová, Š. Hadravská – Šiklův ústav patologie FN Plzeň

Obrázek 15 CD8 pozitivní T-lymfocyty infiltrující stroma choriových klků



Zdroj: M. Dubová, Š. Hadravská – Šiklův ústav patologie FN Plzeň

10 DISKUZE

Placenta je zcela unikátní orgán zprostředkovávající funkční propojení matky a plodu. Vývoj placenty začíná již několik dní po oplození vajíčka. Placenta zastává řadu funkcí, které jsou nezbytné pro fyziologický vývoj plodu. Zprostředkovává výměnu dýchacích plynů a dalších látek mezi krví matky a plodu, plní funkci imunologické bariéry a produkuje celou řadu hormonů. Je tedy zřejmé, že patologické stavy postihující placentu, mohou zásadním způsobem ovlivnit průběh gravidity.

Záněty patří mezi nejčastější patologické stavy postihující placentu. Na základě Amsterdamské klasifikace placentárních lézí z roku 2014 lze záněty rozdělit do dvou kategorií. První kategorie je reprezentována záněty infekční etiologie, druhou kategorií představují záněty idiopatické.

Skupina idiopatických zánětů se v současnosti dostává do popředí vědeckého zájmu. Jedná se o záněty, v jejichž etiopatogenezi se uplatňuje abnormální reakce mateřského imunitního systému proti antigenům plodu. Vzhledem k tomu, že plod není geneticky totožný s matkou a placentární bariéra ve skutečnosti nefunguje stoprocentně, předpokládá se, že mateřský imunitní systém po kontaktu s fetálními antigeny začne proti těmto intenzivně reagovat ve snaze o jejich eliminaci. Výsledkem je chronický zánět, který může postihnout kteroukoli část placenty.

Přesto, že z hlediska incidence stojí chronické idiopatické záněty placenty v pozadí majoritní skupiny představované akutními záněty infekční etiologie, z klinického hlediska jde o procesy velmi významné. Tyto záněty mohou negativně ovlivňovat průběh gravidity a mohou významně přispívat ke zvýšení fetální morbidity a mortality. Chronické idiopatické záněty placenty mohou způsobovat růstovou restrikci plodu (FGR), negativně ovlivňovat psychomotorický vývoj novorozence, několikrát byla potvrzena i jejich asociace s opakovanými spontánními aborty. V některých případech mohou být tyto záněty zcela asymptomatické a představují pouze náhodný nález při vyšetření placenty. Jejich riziko však spočívá i v tom, že rekurence těchto zánětů je poměrně vysoká a intenzita zánětu se může v následujících graviditách stupňovat. Tyto záněty tedy vyžadují zvýšenou pozornost, z čehož vyplývá, že klinik by měl být vždy o této diagnóze informován.

Tato bakalářská práce je rozdělena na část teoretickou, která je věnována obecné problematice placentárních zánětů, a na část praktickou, jejímž cílem je porovnání údajů získaných vlastním výzkumem s informacemi dostupnými v odborné literatuře.

Pro tuto studii byl vybrán soubor 413 placent, které byly během jednoho roku vyšetřeny na Šiklově ústavu patologie FN Plzeň. Placenty nebyly primárně nijak selektovány. V souboru byly tedy přítomny placenty živých i mrtvých plodů, pocházejících z jednočetných i vícečetných gravidit. Majoritní většinu reprezentovaly placenty živých plodů z jednočetných gravidit. Průměrné gestační stáří plodů, jejichž placenty byly zařazeny do tohoto souboru, činilo 34, 27 týdnů.

Patologické změny různého významu byly prokázány ve 327 placentách. Nebylo výjimkou, že v některých placentách byl přítomen více než jeden nález.

Nejčastějším nálezem v placentách byly zánětlivé změny. Ve vyšetřeném souboru bylo prokázáno celkem 163 zánětů, přičemž převažovaly záněty akutní (78 %), konkrétně akutní chorioamnionitida. Etiologické agens bylo prokázáno však pouze v 50 placentách. Nejčastějším infekčním činitelem byly koaguláza negativní stafylokoky, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* a *Streptococcus agalactiae*.

Chronické záněty placenty byly naproti tomu prokázány pouze 36x, a reprezentovaly tak 22 % všech zánětlivých změn. Nejčastějším chronickým zánětem byla vilitida neznámé etiologie, za kterou následovala chronická histiocytární intervilitida.

Součástí statistického vyhodnocení dat bylo i určení shody mezi klinickými a patologickými diagnózami zánětů. Ani v jednom případě nebylo klinicky vysloveno podezření na chronický zánět placenty. Klinická diagnóza chorioamnionitidy byla naproti tomu stanovena poměrně často. Jednalo se 72 případů, přičemž v 56 z nich klinickému nálezu odpovídala i diagnóza morfologická. Histologicky byly navíc známky akutního zánětu prokázány v dalších 70 případech, u kterých kliničtí lékaři tuto diagnózu nepředpokládali, většinou se však jednalo o záněty nízké intenzity.

U všech morfologicky prokázaných zánětů byly v nemocničním informačním systému vyhledány informace o bezprostřední poporodní adaptaci novorozence, tzv. Apgar skóre. V 7 z těchto případů nebylo Apgar skóre hodnoceno, neboť šlo o plody, které byly mrtvě porozené nebo potracené.

Pouze ve 2 případech došlo krátce po porodu ke smrti novorozence, v obou případech se jednalo o extrémně nezralé novorozence, v jejichž placentách byl diagnostikován těžký akutní zánět s vyjádřenou fetální odpovědí. V jednom případě byly navíc v placentě plodu prokázány známky mateřské vaskulární malperfúze a marginální úpon pupečníku.

Ve 21 případech bylo u plodů s akutním zánětem placenty prokázáno v 1. minutě po porodu Apgar skóre nižší než 7 bodů. Tato hodnota svědčí pro perinatální hypoxii plodu. V 15 z těchto případů došlo do 5. minuty po porodu ke zvýšení na hodnotu 7 bodů a více. Ve zbylých 6 případech došlo úpravě stavu do 10. minuty po porodu. Ve 14 z 21 případů byly v placentách plodů se zhoršenou poporodní adaptací přítomny známky fetální zánětlivé odpovědi, další 1 případ byl reprezentován placentou, ve které byla prokázána akutní vilitida a hnisavá deciduitida. Ze zjištěných údajů vyplývá, že akutní záněty jako takové nemusejí být příčinou zhoršené poporodní adaptace. Pokud jsou však v placentě již vyjádřeny známky fetální zánětlivé odpovědi, lze horší adaptaci předpokládat. U extrémně nezralých plodů může být těžký akutní zánět placenty příčinou smrti.

Bezprostřední poporodní adaptace novorozenců nebyla signifikantně ovlivněna ani přítomností chronických zánětů neznámé etiologie. Pouze 4 novorozenci vykazovali v 1. minutě života známky zhoršené adaptace, u 3 z těchto plodů došlo k normalizaci hodnot Apgar skóre do 5. minuty po porodu, u posledního případu až v 10. minutě života. U posledního případu byly v placentě prokázány známky chronické vilitidy neznámé etiologie, chronické histiocytární intervilitidy a dále byla přítomna amniální plika pupečníku. Lze se tedy domnívat, že ke zhoršené poporodní adaptaci plodu vedla kombinace těchto nálezů. Chronické záněty placenty byly v 10 případech (téměř 28 %) asociovány s fetální růstovou restrikcí plodu.

U 14 matek s potvrzenou diagnózou chronického imunitně podmíněného zánětu placenty byly v anamnéze nalezeny informace o předčasných porodech, opakovaných potratech a nízké porodní hmotnosti plodů. Ačkoli v žádném ze suspektních případů nebyl k dispozici bioptický materiál, který by bylo možné zrevidovat, lze i přesto na základě znalosti těchto anamnestických údajů vyslovit podezření, že se v několika případech mohl zánět vyskytovat již v předchozí graviditě a mohl vést k výše uvedeným komplikacím.

Posledním úkolem praktické části výzkumu bylo ověření správnosti morfologických diagnóz. Ze souboru bylo vybráno 15 případů, u nichž byla prokázána růstová restrikce plodu, ale vyšetření placenty neodhalilo žádné změny, které by mohly s touto diagnózou souviset. Na základě znalosti literárních údajů i statistických výsledků této studie, jsme vyslovili podezření, že i v některém z vybraných případů mohl figurovat chronický imunitně podmíněný zánět, ovšem tento se v konvenčním vyšetření Hematoxylinem a Eosinem nepodařilo prokázat. Vybrané vzorky byly dodatečně imunohistochemicky vyšetřeny a v 1 (6,66 %) z těchto případů byla prokázána přítomnost

VUE. Ačkoli byl tento výzkum zatížen malou velikostí vyšetřovaného souboru, lze na základě výše popsaných výsledků doporučit imunohistochemické ověření přítomnosti chronických idiopatických zánětů v morfologicky neobjasněných případech FGR. Z praxe je totiž známo, že tyto záněty mohou být poměrně diskrétní a jejich ložiskový charakter může být příčinou toho, že mohou být při použití konvenčního barvení (zejména při absenci typických změn) přehlédnuty anebo podhodnoceny. Dle mého názoru může imunohistochemické vyšetření pomoci tyto diagnostické chyby eliminovat.

ZÁVĚR

Placenta je významným orgánem, jehož správná funkce je naprosto nezbytná pro fyziologický průběh gravidity. Není tedy překvapující, že některé patologické stavy mohou její funkci kompromitovat a vést k mnoha závažným obtížím. Morfologickým vyšetřením placenty lze získat řadu cenných informací o průběhu těhotenství a jejich správnou interpretací vysvětlit nejrůznější komplikace, které jej provázely.

Nejčastějšími patologickými stavy postihujícími placentu jsou záněty. Amsterdamská klasifikace placentárních lézí rozděluje zánětlivé procesy placenty na záněty způsobené infekcí a záněty idiopatické, imunitně podmíněné. Zejména v pořadí druhá skupina je v současné době předmětem řady výzkumných projektů. Ačkoli z hlediska incidence stojí idiopatické záněty placenty v pozadí majoritní skupiny zánětů infekční etiologie, klinicky jde o stavy velmi významné.

Fetální růstová restrikce, narušený psychomotorický vývoj plodu či habituální potrácení představují pouze stručný výčet komplikací, které mohou být asociovány s těmito záněty.

Přestože byl výzkum zatížen malou velikostí vyšetřovaného souboru, prokázal, že imunohistochemické barvení může pomoci objasnit příčiny růstové restrikce plodu, v jehož placentě nebyla konvenčním barvením prokázána žádná patologie.

Lze doporučit další výzkum tohoto tématu, neboť chronické záněty představují významné nebezpečí pro plod i matku a je u nich vysoké riziko rekurence v dalších graviditách.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. APGAR, V. A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. *Current Researches Anesthesia and Analgesia*, 1953, 32(4): 260-7. Dostupné z: <https://profiles.nlm.nih.gov/ps/access/CPBBKG.pdf>
2. BAERGEN, Rebecca N., 2011. *Manual of pathology of the human placenta*. Second edition. New York Dordrecht Heidelberg London: Springer. ISBN 978-1-4419-7493-8.
3. BEDNÁŘ, Marek, Věra FRAŇKOVÁ, Jiří SCHINDLER, Andrej SOUČEK a Jiří VÁVRA. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha: Marvil, 1996. ISBN 80-238-0297-6.
4. BOSKABADI, Hassan a Maryam ZAKERIHAMIDI, 2018. Evaluation of Maternal Risk Factors, Delivery, and Neonatal Outcomes of Premature Rupture of Membrane: A Systematic Review Study. *Journal of Pediatrics Review* [online]. 77–88. ISSN 23224398, 23224401. Dostupné z: [doi:10.32598/jpr.7.2.77](https://doi.org/10.32598/jpr.7.2.77)
5. CAKIR, Ufuk, Duran YILDIZ, Dilek KAHVECIOGLU, Emel OKULU, Serdar ALAN, Omer ERDEVE, Aylin Okcu HEPER, Begum ATASAY a Saadet ARSAN, 2018. Placenta, secret witness of infant morbidities: the relationship between placental histology and outcome of the premature infant. *Turkish Journal of Pathology* [online]. [vid. 2019-03-26]. ISSN 1018-5615, 1309-5730. Dostupné z: [doi:10.5146/tjpath.2018.01443](https://doi.org/10.5146/tjpath.2018.01443)
6. COSTA, Mariana A., 2016. The endocrine function of human placenta: an overview. *Reproductive BioMedicine Online* [online]. 32(1), 14–43. ISSN 14726483. Dostupné z: [doi:10.1016/j.rbmo.2015.10.005](https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.10.005)
7. DORT, Jiří, Eva DORTOVÁ, Petr JEHLIČKA, Zbyněk STRAŇÁK a Miloš ČERNÝ, 2013. *Neonatologie* [online] [vid. 2019-03-21]. ISBN 978-80-246-2642-0. Dostupné z: <http://public.eblib.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=1996780>
8. GAMI, Neha a Shalini RAJARAM. Fetal growth restriction: review article. *Indian Obstetrics*[online]. 2013, 3(3), 14-17 [cit. 2019-03-22]. ISSN 22307214.

9. CHEEK, Bradley, Stephen HEINRICH, Kenneth WARD a Randall CRAVER, 2015. Eosinophilic/T-cell Chorionic Vasculitis: Histological and Clinical Correlations. *Fetal and Pediatric Pathology* [online]. **34**(2), 73–79. ISSN 1551-3815, 1551-3823. Dostupné z: doi:10.3109/15513815.2014.966934
10. JIRKOVSKÁ, Marie. *Histologická technika: pro studenty lékařství a zdravotnické techniky*. Druhé, doplněné vydání. Praha: Galén, [2017]. *Základy* (Galén). ISBN 978-80-7492-325-8.
11. KAPPELLER, Karol a Viera POSPÍŠILOVÁ. *Embryologický atlas: Atlas of embryology*. /1.vyd. Martin: Osveta, c1996. ISBN 80-217-0549-3.
12. KAPLAN C. *Color Atlas of Gross Placental Pathology: Second edition*. 2. US: Springer, 2007. ISBN 978-0387-33842-2.
13. KHONG, T. Yee, Eoghan E. MOONEY, Ilana ARIEL, Nathalie C. M. BALMUS, Theonia K. BOYD, Marie-Anne BRUNDLER, Hayley DERRICOTT, Margaret J. EVANS, Ona M. FAYE-PETERSEN, John E. GILLAN, Alex E. P. HEAZELL, Debra S. HELLER, Suzanne M. JACQUES, Sarah KEATING, Peter KELEHAN, Ann MAES, Eileen M. MCKAY, Terry K. MORGAN, Peter G. J. NIKKELS, W. Tony PARKS, Raymond W. REDLINE, Irene SCHEIMBERG, Mirthe H. SCHOOTS, Neil J. SEBIRE, Albert TIMMER, Gitta TUROWSKI, J. Patrick VAN DER VOORN, Ineke VAN LIJNSCHOTEN a Sanne J. GORDIJN, 2016. Sampling and Definitions of Placental Lesions: Amsterdam Placental Workshop Group Consensus Statement. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* [online]. **140**(7), 698–713. ISSN 0003-9985, 1543-2165. Dostupné z: doi:10.5858/arpa.2015-0225-CC
14. KIM, Chong Jai, Roberto ROMERO, Piya CHAEMSAITHONG, Noppadol CHAIYASIT, Bo Hyun YOON a Yeon Mee KIM, 2015a. Acute chorioamnionitis and funisitis: definition, pathologic features, and clinical significance. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* [online]. **213**(4), S29–S52. ISSN 00029378. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajog.2015.08.040
15. KIM, Chong Jai, Roberto ROMERO, Piya CHAEMSAITHONG a Jung-Sun KIM, 2015b. Chronic inflammation of the placenta: definition, classification, pathogenesis, and clinical significance. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* [online]. **213**(4), S53–S69. ISSN 00029378. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajog.2015.08.041

16. KOBILKOVÁ, Jitka. *Základy gynekologie a porodnictví*. Praha: Galén, c2005. ISBN 80-7262-315-x.
17. MANDAL, Mita, Arunima CHAUDHURI, Debdtut BANERJEE, Priyankar KANRAR a SamirKumar HAZRA, 2017. Impact of management protocols of intrauterine fetal death on perceived stress: A comparative study. *Journal of the Scientific Society* [online]. **44**(3), 121. ISSN 0974-5009. Dostupné z: doi:10.4103/jss.JSS_43_17
18. MOORE, Shelley c. A Practical Overview of Endometriosis. *International Journal of Childbirth Education*[online]. 2019, **34**(1), 46-49 [cit. 2019-03-22]. ISSN 08878625.
19. MUNTAU, Ania. *Pediatric*. Praha: Grada, 2009. ISBN 978-80-247-2525-3.
20. PARFITT, Sheryl E. a Sandra L. HERING, 2018. Recognition and Management of Sepsis in the Obstetric Patient. *AACN Advanced Critical Care* [online]. **29**(3), 303–315. ISSN 1559-7768, 1559-7776. Dostupné z: doi:10.4037/aacnacc2018171
21. REDLINE, Raymond W. Classification of placental lesions. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. 2015, **213**(4), 21-28. ISSN 0002-9378.
22. TROJAN, Stanislav. *Lékařská fyziologie*. 4. vyd. přepr. a dopl. Praha: Grada Publishing, 2003. ISBN 978-80-247-0512-5.
23. TROJAN, Stanislav a Michael SCHREIBER. *Atlas biologie člověka: 430 modelových otázek k přijímacím zkouškám na medicínu : 100 obrazových podkladů k opakování a procvičování*. Praha: Scientia, 2002. ISBN 80-7183-257-x.
24. VAJNER, Luděk. *Lékařská histologie II.: mikroskopická anatomie*. Praha: Karolinum, 2012. ISBN 978-80-246-2165-4.
25. VARDI, Leehe, Helen PATERSON a Noelyn Anne HUNG, 2017. Successful pregnancy following treatment of recurrent chronic histiocytic intervillitis. *BMJ case reports* [online]. **2017**, bcr2016217886. ISSN 1757-790X. Dostupné z: doi:10.1136/bcr-2016-217886
26. VIRELLA, Gabriel. *Introduction to medical immunology*. 4th ed. New York: M. Dekker, c1998. ISBN 978-0-8247-9897-0.
27. ZWINGER, A. Spontánní potrat. *Moderní babictví*. Praha: Levret, 2004 (4). ISSN 1214-5572. Dostupné z <https://www.levret.cz/publikace/casopisy/mb/2004-4/?pdf=129>.

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha A pro stranu 51: Protokol – Barvení protilátkami proti CD8	80
Příloha B pro stranu 51: Protokol – Barvení protilátkami proti CD68.....	81
Příloha C pro stranu 51: Protokol – Barvení protilátkami proti CD138	82
Příloha D: Povolení sběru informací ve FN Plzeň	83

Příloha A pro stranu 51: Protokol – Barvení protilátkami proti CD8

Souhrn protokolů		
Procedura: U ultraView DAB (v1.02.0018)		
BenchMark ULTRA IHC/ISH Staining Module		
FN Plzeň, alej Svobody Plzeň		
Č. protokolu	Název protokolu	Datum vytvoření
131	CD 8 dako	20.10.2011
<ol style="list-style-type: none">1 Sušení [Zvoleno]2 Zahřát skla na [75 st. C] a inkubovat po dobu [4 minuty] (Sušení)3 Odparafinování [Zvoleno]4 Ohřát sklíčka na [72 st. C] z Střední teploty (Odparafinování)5 Kondicionování buněk [Zvoleno]6 ULTRA Conditioner #1 [Zvoleno]7 Zahřát skla na [95 st. C] a inkubovat po dobu 8 minut (Kondicionér buněk č.1)8 20 minut při použití lahve ULTRA CC1 [Zvoleno]9 36 minut při použití lahve ULTRA CC1 [Zvoleno]10 52 minut při použití lahve ULTRA CC1 [Zvoleno]11 Teploty inkubace protilátky [Zvoleno]12 Zahřát skla na [37 st. C] a inkubovat po dobu 4 minuty (Protilátka)13 Titrace [Zvoleno]14 Hand Apply (Primární protilátka), and Incubate for [0 h 32 min]15 Jádrové barvení [Zvoleno]16 Aplikovat jednu kapku [HEMATOXYLIN II] (Jádrové barvení), zakrýt a inkubovat po dobu [4 minuty]17 Po jádrovém barvení [Zvoleno]18 Aplikovat jednu kapku [BLUING REAGENT] (Po jádrovém barvení), zakrýt a inkubovat po dobu [4 minuty]		

Zdroj: vlastní

Příloha B pro stranu 51: Protokol – Barvení protilátkami proti CD68

Souhrn protokolů		
Procedura: U ultraView DAB (v1.02.0018)		
BenchMark ULTRA IHC/ISH Staining Module		
FN Plzeň, alej Svobody Plzeň		
Č. protokolu	Název protokolu	Datum vytvoření
130	KP1 (CD68) dako	08.09.2011
1	Sušení [Zvoleno]	
2	Zahřát skla na [75 st. C] a inkubovat po dobu [4 minuty] (Sušení)	
3	Odparafinování [Zvoleno]	
4	Ohřát sklička na [72 st. C] z Střední teploty (Odparafinování)	
5	Kondicionování buněk [Zvoleno]	
6	ULTRA Conditioner #1 [Zvoleno]	
7	Zahřát skla na [95 st. C] a inkubovat po dobu 8 minut (Kondicionér buněk č.1)	
8	20 minut při použití lahve ULTRA CC1 [Zvoleno]	
9	Teploty inkubace protilátky [Zvoleno]	
10	Zahřát skla na [37 st. C] a inkubovat po dobu 4 minuty (Protilátka)	
11	Titrace [Zvoleno]	
12	Hand Apply (Primární protilátka), and Incubate for [0 h 32 min]	
13	Jádrové barvení [Zvoleno]	
14	Aplikovat jednu kapku [HEMATOXYLIN II] (Jádrové barvení), zakrýt a inkubovat po dobu [4 minuty]	
15	Po jádrovém barvení [Zvoleno]	
16	Aplikovat jednu kapku [BLUING REAGENT] (Po jádrovém barvení), zakrýt a inkubovat po dobu [4 minuty]	

Zdroj: Vlastní

Příloha C pro stranu 51: Protokol – Barvení protilátkami proti CD138

Souhrn protokolů		
Procedura: U ultraView DAB (v1.02.0018)		
BenchMark ULTRA IHC/ISH Staining Module		
FN Plzeň, alej Svobody Plzeň		
Č. protokolu	Název protokolu	Datum vytvoření
191	CD 138 Dako	07.10.2011
<ol style="list-style-type: none">1 Sušení [Zvoleno]2 Zahřát skla na [75 st. C] a inkubovat po dobu [4 minuty] (Sušení)3 Odparafinování [Zvoleno]4 Ohřát sklička na [72 st. C] z Střední teploty (Odparafinování)5 Kondicionování buněk [Zvoleno]6 ULTRA Conditioner #1 [Zvoleno]7 Zahřát skla na [95 st. C] a inkubovat po dobu 8 minut (Kondicionér buněk č.1)8 20 minut při použití lahve ULTRA CC1 [Zvoleno]9 36 minut při použití lahve ULTRA CC1 [Zvoleno]10 52 minut při použití lahve ULTRA CC1 [Zvoleno]11 64 minut při použití lahve ULTRA CC1 [Zvoleno]12 Teploty inkubace protilátky [Zvoleno]13 Zahřát skla na [37 st. C] a inkubovat po dobu 4 minuty (Protilátka)14 Titrace [Zvoleno]15 Hand Apply (Primární protilátka), and Incubate for [0 h 40 min]16 Jádrové barvení [Zvoleno]17 Aplikovat jednu kapku [HEMATOXYLIN II] (Jádrové barvení), zakrýt a inkubovat po dobu [8 minut]18 Po jádrovém barvení [Zvoleno]19 Aplikovat jednu kapku [BLUING REAGENT] (Po jádrovém barvení), zakrýt a inkubovat po dobu [4 minuty]		

Zdroj: vlastní

Příloha D Povolení sběru informací ve FN Plzeň



FAKULTNÍ NEMOCNICE PLZEŇ

Útvar náměstka pro ošetrovatelskou péči

Edvarda Beneše 13, 305 99 Plzeň - Bory
alej Svobody 80, 304 60 Plzeň - Lochotín
IČO 00669806 tel.: 377 401 111, 377 103 111

Vážená paní

Diana Voráčková

Studentka oboru Zdravotní laborant

Fakulta zdravotnických studií - Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Západočeská univerzita v Plzni

Povolení sběru informací ve FN Plzeň

Na základě Vaší žádosti Vám jménem Útvaru náměstkyně pro ošetrovatelskou péči FN Plzeň **uděluji souhlas** se zpracováním anonymizovaných dat z výsledků laboratorních metod, používaných na pracovišti *Šiklova ústavu patologie (ŠÚP) FN Plzeň*. Tento souhlas je vydáván, při splnění níže uvedených podmínek, v souvislosti s vypracováním Vaší bakalářské práce s názvem „*Morfologie a imunohistochemický profil zánětlivých lézí v placentě*“.

Podmínky, za kterých Vám bude umožněna realizace Vašeho šetření ve FN Plzeň:

- Vrchní zdravotní laborantka ŠÚP souhlasí s Vaším postupem.
- Osobně povedete svoje šetření.
- Vaše šetření nenaruší chod pracoviště ve smyslu provozního zajištění dle platných směrnic FN Plzeň, ochrany dat pacientů a dodržování Hygienického plánu FN Plzeň. **Vaše šetření bude provedeno za dodržení všech legislativních norem, zejména s ohledem na platnost zákona č. 372/2011 Sb.,** o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování, v platném znění.
- Údaje ze zdravotnické dokumentace pacientů, které budou uvedeny ve Vaší bakalářské práci, musí být anonymizovány.
- Sběr informací budete provádět v době Vaší, školou schválené, odborné praxe a pod přímým vedením oprávněného zdravotnického pracovníka, kterým je **MUDr. Magdaléna Dubová, Ph.D., lékárka ŠÚP FN Plzeň**.

Po zpracování Vámi zjištěných údajů poskytnete zdravotnickému oddělení / klinice či organizačnímu celku FN Plzeň závěry Vašeho šetření, pokud o ně projeví oprávněný pracovník ZOK / OC zájem a budete se aktivně podílet na případné prezentaci výsledků Vašeho šetření na vzdělávacích akcích pořádaných FN Plzeň.

Toto povolení nezakládá povinnost zdravotnických pracovníků s Vámi spolupracovat, pokud by spolupráce s Vámi narušovala plnění pracovních povinností zaměstnanců. Spolupráce zaměstnanců FN Plzeň na Vašem šetření je dobrovolná.

Přeji Vám hodně úspěchů při studiu.

Mgr. Bc. Světluše Chabrová
manažerka pro vzdělávání a výuku NELZP
zástupkyně náměstkyně pro oš. péči

Útvar náměstkyně pro oš. péči FN Plzeň
tel.: 377 103 204, 377 402 207
e-mail: chabrovas@fnplzen.cz

23. 3. 2018