ROZDZIAŁ 75

Poród przedwczesny z perspektyw molekularnej i biologicznej

Ramkumar Menon

KLUCZOWE ZAGADNIENIA

- Odsetek porodów przedwczesnych na całym świecie utrzymuje się na wysokim poziomie.
- Biologiczna i kliniczna wieloczynnikowość porodu przedwczesnego utrudniają dokładne przewidywanie ryzyka, wczesne rozpoznanie i skuteczne postępowanie.
- Uwzględnienie płodu jako pacjenta oraz ukierunkowanie terapii na zapalenie jako kluczowy mechanizm w patogenezie porodu przedwczesnego wskazują na potrzebę równoczesnych interwencji u matki i płodu z zastosowaniem możliwie najbezpieczniejszych, nietoksycznych i nieteratogennych leków.
- Obiecującą strategią zapobiegania przedwczesnym porodom może być metoda polegająca na wprowadzeniu interleukiny 10 do egzosomów.

75.1. Wprowadzenie

W Stanach Zjednoczonych odsetek ciąż zakończonych porodem przedwczesnym (PTB, *preterm birth*), to znaczy < 37. tygodniem ciąży, wynosi 10,5% rocznie [1, 2]. Według danych opublikowanych w drugiej edycji raportu *Born Too Soon*, zawierającego szczegółowe informacje na temat globalnych działań ukierunkowanych na zmniejszenie częstości porodów przedwczesnych, w ciągu ostatniej dekady osetek ten nie uległ istotnej zmianie, a w wielu regionach świata obserwuje się wręcz jego wzrost [2]. Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (FDA, *Food and Drug Administration*) nie zarejestrowała w ostatnich dziesięcioleciach nowych leków przeznaczonych do zapobiegania porodom przedwczesnym, z powodu braku danych z wiarygodnych modeli badawczych. Ze względu na specyfikę fizjologii ciąży kobiety ciężarne są najczęściej wykluczane z procesu opracowywania leków i badań klinicznych [3–7]. Pomimo rosnącej zachorowalności i śmiertelności matek, a także szczególnych uwarunkowań fizjologicznych ciąży kobiety ciężarne i karmiące piersią są rzadko włączane do badań nad nowymi terapiami [1–5]. Wykluczenie to zachodzi na wielu poziomach, obejmujących między innymi:

- instytucje regulacyjne – z uwagi na obawy „etyczne" dotyczące potencjalnego ryzyka dla kobiet ciężarnych i karmiących piersią, tradycyjnie postrzeganych jako „populacja szczególnie wrażliwa";
- przemysł farmaceutyczny – ze względu na na obawy przed roszczeniami prawnymi, mniejszy udział w rynku oraz ograniczony zwrot z inwestycji;
- badacze – ze względu na trudności logistyczne i operacyjne w prowadzeniu badań u ciężarnych, w tym problemy rekrutacyjne, niedostateczną liczbę zdrowych ochotniczek, konieczność długotrwałej obserwacji w celu oceny bezpieczeństwa, brak jasnych wytycznych oraz, co szczególnie istotne, brak wiarygodnych i innowacyjnych biomarkerów umożliwiających ocenę odpowiedzi płodu i matki na leczenie, a tym samym bezpieczeństwa i skuteczności terapii. W konsekwencji kobiety w ciąży są systematycznie wykluczane z badań nad nowoczesnymi interwencjami medycznymi i terapiami, do których mają dostęp kobiety niebędące w ciąży.

W niniejszym rozdziale dokonano przeglądu aktualnych problemów z perspektywy mechanizmów biologicznych oraz ich znaczenia klinicznego. Poród przedwczesny jest patologią o wysokim stopniu złożoności i heterogeniczności.

75.2. Heterogeniczność fenotypowa

Porody przedwczesne można podzielić na dwie główne kategorie [8]:

- porody przedwczesne indukowane ze wskazań medycznych, w ciążach powikłanych stanem przedrzucawkowym, cukrzycą ciążową oraz innymi patologiami położniczymi dotyczącymi matki lub płodu;
- samoistne porody przedwczesne (idiopatyczne), przebiegające z przedwczesnym przed terminem porodu pęknięciem błon płodowych (PPROM, *preterm premature rupture of the membranes*) lub bez niego.

Samoistne porody przedwczesne klasyfikuje się dodatkowo w zależności od wieku ciążowego na poród późny przedwczesny (32.-37. t.c.), poród bardzo przedwczesny (28.-32. t.c.) poród ekstremalnie przedwczesny (< 28. t.c.). W ostatnich latach więcej uwagi poświęca się coraz częściej występującym tzw. późnym porodom przedwczesnym (34.–37. tygodnia ciąży) ponieważ częstość powikłań w tej grupie wzrasta [9–12]. W dalszej części rozdziału omówiono samoistne porody przedwczesne o nieustalonej etiologii.

75.3. Heterogeniczność etiologiczna

Zróżnicowana etiologia samoistnych porodów przedwczesnych wynika z faktu, że nie są one spowodowane działaniem tylko jednego czynnika [8, 13]. Czynniki ryzyka można podzielić na dwie podstawowe grupy. Pierwsza grupa to czynniki stałe, obecne przed zajściem w ciążę, takie jak przebyty poród przedwczesny, rasa/pochodzenie etniczne, status społeczno-ekonomiczny, czynniki behawioralne (np. palenie tytoniu, nadużywanie alkoholu i substancji psychoaktywnych), predyspozycje genetyczne, uwarunkowania geograficzne i środowiskowe oraz wskaźnik masy ciała (BMI, *body mass index*) [14]. Określa się je jako stałe, ponieważ jest mało prawdopodobne, aby uległy zmianie w trakcie ciąży, a ocena związanego z nimi ryzyka jest możliwa jeszcze przed zajściem w ciążę. Drugą grupę stanowią czynniki zmienne, które pojawiają się w trakcie ciąży, a sama ciąża może zwiększać związane z nimi ryzyko. Obejmują one między innymi zakażenia, reakcje alergiczne, krwawienia, czynniki mechaniczne i immunologiczne, nadmierne rozciąganie tkanek, stres, zmiany szyjki macicy oraz inne powikłania pochodzenia matczynego. Zmienne czynniki ryzyka pojawiające się w trakcie ciąży i istniejące wcześniej czynniki stałe mogą

w złożony sposób (dotychczas słabo poznany) wzajemnie na siebie oddziaływać, uruchamiając procesy patofizjologiczne prowadzące do przedwczesnego porodu. Interakcje te są nieprzewidywalne i często rozwijają się gwałtownie, co znacznie utrudnia wczesną identyfikację ciąż wysokiego ryzyka [14, 15].

75.4. Heterogeniczność biomarkerów

Nie ma wiarygodnych biomarkerów, które umożliwiałyby przewidywanie wysokiego ryzyka porodu przedwczesnego, co w dużej mierze wynika z jego heterogeniczności etiologicznej [15, 16]. Złożone interakcje stałych i zmiennych czynników ryzyka mogą prowadzić do różnorodnych zmian mechanicznych i molekularnych w narządach i strukturach jednostki matczno-płodowej (łożysko, błony płodowe, doczesna, szyjka macicy), które wywołują liczne zmiany biochemiczne i molekularne prowadzące do nasilonego stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego. Powstające w wyniku procesów patofizjologicznych mediatory biochemiczne sprzyjają wystąpieniu porodu przedwczesnego poprzez aktywację szlaków prowadzących do przedwczesnej czynności skurczowej macicy. Jednak niezależnie od istniejących czynników ryzyka oraz ich interakcji ze środowiskiem wewnątrzmacicznym, biomarkery powstające w tych procesach mają zwykle charakter nieswoisty i nie pozwalają jednoznacznie rozróżnić czynników inicjujących oraz mechanizmów prowadzących do inicjacji porodu. Innymi słowy – znane obecnie biomarkery nie umożliwiają wiarygodnej identyfikacji ciąż wysokiego ryzyka ani precyzyjnego określenia przyczyn prowadzących do porodu przedwczesnego. Pomimo znaczących postępów w badaniach nad biomarkerami dotychczas żaden z nich nie został wprowadzony do praktyki klinicznej jako niezawodne narzędzie kliniczne ułatwiające postępowanie w ciąży wysokiego ryzyka [16].

Ponadto biomarkery analizowane w materiałach biologicznych kobiet ciężarnych cechują się heterogennością uwarunkowaną wieloma czynnikami, przez co dane są niejednoznaczne i trudne do interpretacji. W związku z tym dotychczas nie zidentyfikowano jednego biomarkera lub biomarkerów, które byłyby wiarygodnym czynnikiem predykcyjnym zwiększonego ryzyka wystąpienia samoistnego porodu przedwczesnego. Przeprowadzono kilka przeglądów systematycznych dotyczących biomarkerów związanych z porodami przedwczesnymi, w których zidentyfikowano istotne źródła heterogeniczności utrudniające wybór odpowiedniego biomarkera. Obejmują one między innymi różnice populacyjne i geograficzne, odmienne definicje fenotypów klinicznych, różny wiek ciążowy w momencie pobrania próbek, rodzaj materiału biologicznego, dobór markerów oraz zastosowane testy i metody analityczne [17].

75.5. Inne obszary heterogeniczności

Różne mechanizmy patofizjologiczne wpływające na rozpoczęcie czynności skurczowej macicy, zróżnicowany obraz kliniczny, uwarunkowania rasowe, etniczne, czynniki genetyczne i epigenetyczne warunkują heterogenność porodu przedwczesnego, utrudniając jego przewidywanie, zapobieganie i leczenie [14].

Rozwój sztucznej inteligencji (AI, *artificial intelligence*) i uczenia maszynowego (ML, *machine learning*) otwiera nowe możliwości w zakresie przewidywania porodu przedwczesnego poprzez integrację danych klinicznych, biochemicznych, mikrobiologicznych, obrazowych oraz danych z urządzeń przenośnych [18–21]. Modele uczenia nadzorowanego i uczenia głębokiego, takie jak lasy losowe, wzmacnianie gradientu i sieci neuronowe, wykazują obecnie przewagę nad tradycyjnymi metodami oceny ryzyka, ponieważ uwzględniają złożone nieliniowe zależności między charakterystyką demograficzną matek, danymi z wywiadu położniczego, wynikami badań obrazowych szyjki macicy, oznaczeniami biomarkerów zapalnych i danymi z elektronicznej dokumentacji medycznej obejmującej dłuższe okresy obserwacji. Nowe strategie postępowania, w tym uczenie federacyjne i monitorowanie w czasie rzeczywistym, dodatkowo zwiększają przejrzystość, możliwość uogólniania i użyteczność kliniczną modelu. Połączenie tych działań opartych na uzyskanych danych przesuwa przewidywanie ryzyka porodu przedwczesnego z poziomu populacyjnego w stronę spersonalizowanych, wczesnych i klinicznie użytecznych prognoz, pozwalając na podjęcie właściwych działań zapobiegawczych.

Modele te podlegają rozwojowi i są obecnie przedmiotem rygorystycznych badań oraz testów walidacyjnych w prospektywnych badaniach kohortowych.

W następnej dekadzie można oczekiwać rozwoju modeli *in silico* (badań przeprowadzonych za pomocą komputera) do zastosowań klinicznych, w których dane kliniczne uzyskane przy pacjentce (wywiad, badania podmiotowe i przedmiotowe) umożliwi dokładniejsze przewidywanie ryzyka.

75.6. Mechanizmy przedwczesnej czynności porodowej i porodu przedwczesnego

Mechanizmy przedwczesnej czynności porodowej i porodu przedwczesnego można podzielić na dwie zasadnicze klasy:

1) czynniki inicjujące, obejmujące zakażenia oraz inne bodźce, które mogą aktywować liczne szlaki molekularne w obrębie struktur wewnątrzmacicznych [13, 14]. Każdy czynnik ryzyka inicjuje specyficzną kaskadę molekularną w komórce, co prowadzi do różnorodnych odpowiedzi komórkowych. W efekcie patologiczne procesy biologiczne mogą wprowadzać będące w spoczynku tkanki macicy i szyjki macicy w stan aktywnego porodu;

2) czynniki efektorowe, czyli cząsteczki zdolne do wywoływania aktywnych skurczów macicy oraz inicjacji dojrzewania szyjki macicy. Kluczową rolę odgrywają mediatory zapalne, których działanie jest dodatkowo nasilane przez reaktywne formy tlenu (ROS, *reactive oxygen species*), pogłębiające uszkodzenie tkanek i wzmacniające procesy zapalne, co ostatecznie prowadzi do porodu [22, 23]. Mechanizmy te są zasadniczo wspólne dla porodu o czasie i porodu przedwczesnego, jednak poród w przebiegu ciąży w terminie jest wywoływany przez naturalne i fizjologiczne sygnały, natomiast w przypadku porodu przedwczesnego czynniki ryzyka wywołują procesy patologiczne, które aktywują podobne mechanizmy przedwcześnie, zanim płód osiągnie pełną dojrzałość. Aby doszło do porodu – zarówno o czasie, jak i przedwczesnego – konieczne jest zaburzenie homeostazy w obrębie jednostki matczyno-płodowej. Proces ten jest efektem nasilającego się stanu zapalnego, zwłaszcza w obszarze doczesna–błony płodowe oraz łożysko–doczesna. Zatem poród należy postrzegać jako stan zapalny, który może zaburzać homeostazę, a siła reakcji zapalnej determinuje czas jego wystąpienia [24].

75.7. Postępowanie w przypadku porodu przedwczesnego

Schemat przedstawiony na rycinie 75.1 w sposób uproszczony ilustruje mechanizmy prowadzące do porodu przedwczesnego. Jak pokazano na rycinie, strategie postępowania w przypadku zagrażającego porodu przedwczesnego koncentrują się obecnie na interwencjach terapeutycznych ukierunkowanych głównie ciężarną macicę, to znaczy mięsień macicy, szyjkę macicy oraz doczesną, które mają na celu ograniczenie konsekwencji reakcji zapalnych w jednostce matczyno-płodowej, zaburzających homeostazę. Najczęściej stosowane metody terapeutyczne mające na celu zmniejszenie ryzyka porodu przedwczesnego obejmują podawanie tokolityków, leków przeciwzapalnych, antybiotyków i progesteronu [25–27]. Przeprowadzono liczne badania kliniczne obejmujące suplementację antyoksydantami, modyfikację stylu życia, z zakładaniem szwów szyjkowych i pessarów oraz profilaktycznym stosowaniem progesteronu, jednak skuteczność tych interwencji pozostaje ograniczona. Utrzymujący się wysoki odsetek porodów przedwczesnych na świecie sugeruje, że interwencje podejmowane po rozpoczęciu porodu oraz przebudowy szyjki macicy są zasadniczo niewystarczające dla skutecznego zapobiegania porodowi przedwczesnemu. Jak już wcześniej wspomniano, w czasie kiedy na skutek reakcji zapalnych pochodzenia płodowego i matczynego dochodzi do rozpoczęcia zaburzeń homeostazy utrzymującej ciążę, skoordynowana kaskada biologiczna prowadząca do porodu jest już w zaawansowanej fazie. Z tego względu interwencje podejmowane na późniejszych etapach tego procesu przynoszą ograniczone korzyści terapeutyczne. Niemniej jednak nawet niewielkie opóźnienie porodu (o ok. 48–72 godzin) ma istotne znaczenie kliniczne, ponieważ umożliwia podanie kortykosteroidów oraz podjęcie innych interwencji wspomagających dojrzewanie narządów płodu.

Z perspektywy nauk podstawowych opracowywanie leków przeznaczonych do stosowania w ciąży i prowadzenie badań klinicznych z ich użyciem jest dużym wyzwaniem. Główne ograniczenia w tym zakresie polegają na tym, że:

- obecne modele *in vitro* nie odzwierciedlają w pełni złożoności struktury i funkcji narządów jednostki matczyno-płodowej oraz wewnątrzmacicznych interakcji międzykomórkowych;
- większość badań przedklinicznych prowadzi się na modelach zwierzęcych, które istotnie różnią się od fizjologii ciąży u ludzi;
- modele naczelnych innych niż człowiek są bardziej adekwatne, jednak w badaniach przedklinicznych ich zastosowanie jest kosztowne, czasochłonne i skomplikowane logistycznie.

75.7.1. Leki i strategie postępowania nowej generacji

Poród przedwczesny charakteryzuje się złożonym fenotypem, który obejmuje dwie współistniejące patofizjologie – matczyną i płodową. Obecnie stosowane strategie terapeutyczne koncentrują się niemal wyłącznie na matce, pomijając płód jako pacjenta. Jak już wcześniej wspomniano, odpowiedź zapalna ze strony płodu stanowi jeden z kluczowych czynników inicjujących poród przedwczesny. Ograniczenie tej reakcji może wtórnie doprowadzić do wygaszenia stanu zapalnego w organizmie matki oraz przywrócić do stanu spoczynku mięsień macicy i szyjkę macicy, a w efekcie zapobiec zaburzeniom homeostazy wywołanym stanem zapalnym. Jednym z głównych aspektów klinicznych jest określenie, kto jest pacjentem: matka, płód czy może oboje? Obecnie stosowane interwencje wykluczają płód jako pacjenta i koncentrują się na organizmie matki, przez co mogą być nieskuteczne. Podjęcie działań terapeutycznych ukierunkowanych na płód nie jest jednak łatwe z następujących powodów:

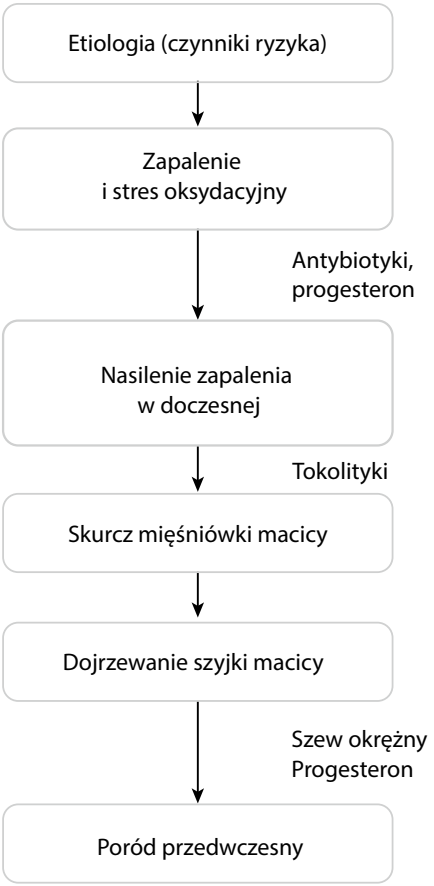
- leki ukierunkowane na płód mogą nie posiadać zdolności do przekraczania barier jednostki matczyno-płodowej i tym samym nie wykazywać skuteczności terapeutycznej;
- leki przekraczające barierę łożyskową często mają działanie teratogenne;
- skuteczny lek o działaniu przeciwzapalnym, interleukina 10 (IL-10), która zmniejsza odpowiedź zapalną płodu, hamuje poród przedwczesny i nie wykazuje działania teratogennego, wymaga podania do jamy owodniowej [28], dlatego nie stosowano jej dotychczas w badaniach klinicznych.

Przedstawione ograniczenia i dylematy badaczy zajmujących się naukami podstawowymi można jednak rozwiązać dzięki zaawansowanym metodom rozwoju, badania i podawania leków.

Zaawansowane metody rozwoju leków obejmują identyfikację bezpiecznego leku, który może ograniczyć reakcję zapalną zarówno ze strony matki, jak i płodu. W dalszej części rozdziału omówiono niektóre ze strategii opracowanych w laboratorium autora w celu przezwyciężenia obecnych ograniczeń.

Wybór leku

Głównym celem leczenia pozostaje zahamowanie stanu zapalnego. Wyniki badań przeprowadzonych przez autora rozdziału, podobnie jak prace innych zespołów, wykazały



Rycina 62.1. Aktualne strategie postępowania mające na celu zmniejszenie ryzyka porodu przedwczesnego

korzyści ze stosowania IL-10 jako potencjalnego środka terapeutycznego ograniczającego stan zapalny [29]. Interleukina 10 jest wytwarzana przez większość komórek układu rozrodczego, jednak w odpowiedzi na zakażenia oraz inne czynniki ryzyka porodu przedwczesnego dochodzi do zmniejszenia jej ekspresji [30–34]. Ponadto hamuje aktywację kompleksu białkowego czynnika jądrowego κB (NF-κB, *nuclear factor κB*) – kluczowego czynnika transkrypcyjnego regulującego odpowiedź immunologiczną i zapalną w wyniku zahamowania transkrypcji genów prozapalnych, co zapobiega uwalnianiu mediatorów zapalenia. Skuteczność IL-10 potwierdzono w licznych badaniach *in vitro* oraz na modelach zwierzęcych, wykazując zahamowanie produkcji cytokin indukowanej przez antygeny bakteryjne (LPS) w różnych typach komórek, a także ograniczenie przedwczesnego porodu wywołanego LPS lub stanem zapalnym w modelach zwierzęcych. Koncepcja terapeutyczna opiera się na hipotezie, że podawanie IL-10 do tkanek matczynych i płodowych objętych zapaleniem umożliwi utrzymanie równowagi immunologicznej

i zahamowanie aktywacji mechanizmów porodowych. Interleukina 10 jest naturalnie występującym białkiem, które w modelach zwierzęcych nie wykazuje długotrwałego ani krótkotrwałego działania immunosupresyjnego. Jak już wcześniej wspomniano, z uwagi na krótki okres półtrwania w krążeniu matczynym musi być jednak podawana doowodniowo, co uniemożliwia dotarcie do bariery matczyno-płodowej, jej przekroczenie oraz wywołanie odpowiedniego efektu terapeutycznego w organizmie płodu [28].

Podawanie leku

Interleukina 10 jest skutecznym lekiem, ale wymaga bezpiecznego podawania do tkanek stanowiących jednostkę matczyno-płodową, gdzie stan zapalny często działa szkodliwie na przebieg ciąży. Opracowaliśmy nowatorskie podejście polegające na wprowadzaniu („pakowaniu") IL-10 do egzosomów – pęcherzyków zewnątrzkomórkowych, które są naturalnymi nanocząsteczkami o rozmiarze 30–200 nm uwalnianymi przez większość komórek [35–37]. Egzosomy są parakrynnymi przekaźnikami sygnału i uczestniczą w różnych procesach związanych z ciążą u ludzi [38, 39]:

- stanowią kanały komunikacji między matką a płodem – transportują różnorodne ładunki, takie jak białka, kwasy nukleinowe, lipidy, resztki komórek itp.;
- przenoszą cząstki, które odzwierciedlają stan fizjologiczny komórek w momencie ich uwolnienia [40]. Tę właściwość wykorzystuje się w badaniach nad biomarkerami. Niektóre choroby związane z ciążą mogą być już potencjalnie zdiagnozowane na podstawie oznaczeń markerów opartych na egzosomach [39, 41–48];
- egzosomy pełnią funkcję sygnalizatorów w procesie porodu u ludzi i wywołują poród przedwczesny w modelach zwierzęcych, w których zwierzęta poddawano ekspozycji na ładunek wzbogacony o markery stanu zapalnego [49–55]. Dostępność egzosomów dla komórek płodowo-matczynych jest korzystnym efektem podczas podawania leków w czasie ciąży [56]. Egzosomy pochodzące z komórek fizjologicznie aktywnych są zwykle immunologicznie obojętne i nie wywołują działań niepożądanych. Natomiast ładunki wzbogacone w określony materiał antygenowy mogą powodować reakcje immunogenne, w tym poród przedwczesny [55].

Dotychczas skutecznie przetestowaliśmy wprowadzenie IL-10 do egzosomów, co chroni ją przed krótkim okresem półtrwania w krążeniu matki oraz umożliwiając jej przenikanie przez barierę łożyskową i zahamowanie reakcji zapalnej u płodu [35, 36, 56, 57]. Wykazano, że IL-10 zawarta w egzosomach przenika przez barierę matczyno-płodową i dociera do płodu, wywołując efekt terapeutyczny bez jakichkolwiek działań niepożądanych. Interleukina 10 zmniejszała też częstość porodów przedwczesnych w modelach zwierzęcych po wstępującym zakażeniu bakteryjnym z pochwy i umożliwiała poród w terminie. Opóźnienie wystąpienia porodu wiązało się z ograniczeniem histologicznych wykładników zapalenia błon płodowych, zmniejszeniem stężenia cytokin zapalnych w płynie owodniowym oraz zwiększeniem stężenia IL-10 w tkankach [36]. Nie obserwowano również negatywnych następstw dla płodu i matki ani pogorszenia stanu zdrowia po porodzie. Wyniki dodatkowych badań przeprowadzonych na różnych modelach *in vitro* wykazały korzystne efekty, które obejmowały zahamowanie stanu zapalnego i brak działania cytotoksycznego. Lek poddano dodatkowym eksperymentom laboratoryjnym i obecnie przygotowywane są już badania kliniczne. Autor rozdziału ma nadzieję, że ta strategia okaże się w przyszłości skutecznym sposobem zapobiegania przedwczesnym porodom.

75.8. Podsumowanie i wnioski

Pomimo prowadzonych przez dziesięciolecia intensywnych badań częstość porodów przedwczesnych na całym świecie utrzymuje się na nieakceptowalnie wysokim poziomie. Złożoność kliniczna i zróżnicowanie czynników biologicznych wpływających na porody przedwczesne ograniczają przewidywanie ryzyka, wczesną diagnostykę i skuteczne leczenie. Aktualnie stosowane strategie terapeutyczne skoncentrowane wyłącznie na matce w ograniczonym stopniu wpływają na globalną częstość występowania porodów przedwczesnych. Uznanie płodu za pacjenta oraz ukierunkowanie terapii na zahamowanie zapalenia jako kluczowego mechanizmu inicjującego poród wiążą się z koniecznością zmiany paradygmatu w kierunku zintegrowanych interwencji matczyno-płodowych, opartych na bezpiecznych, nietoksycznych i nieteratogennych lekach.

Piśmiennictwo

1. Beck S., Wojdyla D., Say L. i wsp. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality

and morbidity. Bull. World Health Organ. 2010; 88 (1): 31–38. doi: 10.2471/BLT.08.062554.

2. Jacobsson B., Requejo J.H., Dey T. i wsp. Women's health and maternal care services: seizing missed opportunities to prevent and manage preterm birth. Reprod. Health 2025; 22 (supl. 2): 109. doi: 10.1186/s12978-025-02034-w.
3. McKiever M., Frey H., Costantine M.M. Challenges in conducting clinical research studies in pregnant women. J. Pharmacokinet. Pharmacodyn. 2020; 47 (4): 287–293. doi: 10.1007/s10928-020-09687-z.
4. Illamola S.M., Bucci-Rechtweg C., Costantine M.M. i wsp. Inclusion of pregnant and breastfeeding women in research – efforts and initiatives. Br. J. Clin. Pharmacol. 2018; 84 (2): 215–222. doi: 10.1111/bcp.13438.
5. Zimmerman K., Gonzalez D., Swamy G.K., Cohen-Wolkowiez M. Pharmacologic studies in vulnerable populations: using the pediatric experience. Semin. Perinatol. 2015; 39 (7): 532–536. doi: 10.1053/j.semperi.2015.08.007.
6. Gynecologists ACoOa. Ethical considerations for including women as research participants. Committee Opinion No. 646. Obstet. Gynaecol. 2015; 126: e100–e107.
7. Sheffield J.S., Siegel D., Mirochnick M. i wsp. Designing drug trials: considerations for pregnant women. Clin. Infect. Dis. 2014; 59 (supl. 7): S437–S444. doi: 10.1093/cid/ciu709.
8. Menon R. Spontaneous preterm birth, a clinical dilemma: etiologic, pathophysiologic and genetic heterogeneities and racial disparity. Acta Obstet. Gynecol. Scand. 2008; 87 (6): 590–600. doi: 10.1080/00016340802005126.
9. Villar J., Papageorghiou A.T., Knight H.E. i wsp. The preterm birth syndrome: a prototype phenotypic classification. Am. J. Obstet. Gynecol. 2012; 206 (2): 119–123. doi: 10.1016/j.ajog.2011.10.866.
10. Kramer M.S., Papageorghiou A., Culhane J. i wsp. Challenges in defining and classifying the preterm birth syndrome. Am. J. Obstet. Gynecol. 2012; 206 (2): 108–112. doi: 10.1016/j.ajog.2011.10.864.
11. Goldenberg R.L., Gravett M.G., Iams J. i wsp. The preterm birth syndrome: issues to consider in creating a classification system. Am. J. Obstet. Gynecol. 2012; 206 (2): 113–118. doi: 10.1016/j.ajog.2011.10.865.
12. Manuck T.A., Esplin M.S., Biggio J. i wsp. The phenotype of spontaneous preterm birth: application of a clinical phenotyping tool. Am. J. Obstet. Gynecol. 2015; 212 (4): 487e1–487e11. doi: 10.1016/j.ajog.2015.02.010.
13. Romero R., Dey S.K., Fisher S.J. Preterm labor: one syndrome, many causes. Science 2014; 345 (6198): 760–765. doi: 10.1126/science.1251816.
14. Vidal M.S. Jr, Lintao R.C.V., Severino M.E.L., Tantengco O.A.G., Menon R. Spontaneous preterm birth: involvement of multiple feto-maternal tissues and organ systems, differing mechanisms, and pathways. Front. Endocrinol. (Lausanne) 2022; 13: 1015622. doi: 10.3389/fendo.2022.1015622.
15. Williams S.M., Rosenblatt K.P., Reznik S. i wsp. Defining knowledge gaps in preterm birth research: can biomarkers fill the gaps? Front. Med. (Lausanne) 2025; 12: 1655833. doi: 10.3389/fmed.2025.1655833.
16. Gravett M.G., Menon R., Tribe R.M. i wsp. Assessment of current biomarkers and interventions to identify and treat women at risk of preterm birth. Front. Med. (Lausanne) 2024; 11: 1414428. doi: 10.3389/fmed.2024.1414428.
17. Menon R., Torloni M.R., Voltolini C. i wsp. Biomarkers of spontaneous preterm birth: an overview of the literature in the last four decades. Reprod. Sci. 2011; 18 (11): 1046–1070. doi: 10.1177/1933719111415548.
18. Golob J.L., Oskotsky T.T., Tang A.S. i wsp. Microbiome preterm birth DREAM challenge: crowdsourcing machine learning approaches to advance preterm birth research. Cell Rep. Med. 2025; 6 (12): 102428. doi: 10.1016/j.xcrm.2025.102428.
19. Shu C.H., Zebda R., Espinosa C. i wsp. Early prediction of mortality and morbidities in VLBW preterm neonates using machine learning. Pediatr. Res. 2025; 97 (6): 2056–2064. doi: 10.1038/s41390-024-03604-7.
20. Verdonk F., Cambriel A., Hedou J. i wsp. An immune signature of postoperative cognitive decline: a prospective cohort study. Int. J. Surg. 2024; 110 (12): 7749–7762. doi: 10.1097/JS9.0000000000002118.
21. Hedou J., Maric I., Bellan G. i wsp. Discovery of sparse, reliable omic biomarkers with Stabl. Nat. Biotechnol. 2024; 42 (10): 1581–1593. doi: 10.1038/s41587-023-02033-x.
22. Menon R. Fetal inflammatory response at the fetomaternal interface: a requirement for labor at term and preterm. Immunol. Rev. 2022; 308 (1): 149–167. doi: 10.1111/imr.13075.
23. Menon R. Initiation of human parturition: signaling from senescent fetal tissues via extracellular vesicle mediated paracrine mechanism. Obstet. Gynecol. Sci. 2019; 62 (4): 199–211. doi: 10.5468/ogs.2019.62.4.199.
24. Behnia F., Sheller S., Menon R. Mechanistic differences leading to infectious and sterile inflammation. Am. J. Reprod. Immunol. 2016; 75 (5): 505–518. doi: 10.1111/aji.12496.
25. Medley N., Vogel J.P., Care A., Alfirevic Z. Interventions during pregnancy to prevent preterm birth: an overview of Cochrane systematic reviews. Cochrane Database Syst. Rev. 2018; 11 (11): CD012505. doi: 10.1002/14651858.CD012505.pub2.
26. Villar J., Gulmezoglu A.M., de Onis M. Nutritional and antimicrobial interventions to prevent preterm birth: an overview of randomized controlled trials. Obstet. Gynecol. Surv. 1998; 53 (9): 575–585. doi: 10.1097/00006254-199809000-00025.
27. McLoughlin G. Interventions during pregnancy to prevent preterm birth: an overview of Cochrane systematic reviews. Res. Nurs. Health. 2020; 43 (2): 206–207. doi: 10.1002/nur.22005.
28. Sadowsky D.W., Novy M.J., Witkin S.S., Gravett M.G. Dexamethasone or interleukin-10 blocks interleukin-1beta--induced uterine contractions in pregnant rhesus monkeys. Am. J. Obstet. Gynecol. 2003; 188 (1): 252–263. doi: 10.1067/mob.2003.70.
29. Zaga-Clavellina V., Flores-Espinosa P., Pineda-Torres M. i wsp. Tissue-specific IL-10 secretion profile from term human fetal membranes stimulated with pathogenic microorganisms

associated with preterm labor in a two-compartment tissue culture system. J. Matern. Fetal Neonatal Med. 2014; 27 (13): 1320–1327. doi: 10.3109/14767058.2013.857397.

30. Fortunato S.J., Menon R., Swan K.F., Lombardi S.J. Interleukin-10 inhibition of interleukin-6 in human amniochorionic membrane: transcriptional regulation. Am. J. Obstet. Gynecol. 1996; 175 (4 cz. 1): 1057–1065. doi: 10.1016/s0002-9378(96)80053-6.
31. Fortunato S.J., Menon R., Lombardi S.J., LaFleur B. Interleukin-10 inhibition of gelatinases in fetal membranes: therapeutic implications in preterm premature rupture of membranes. Obstet. Gynecol. 2001; 98 (2): 284–288. doi: 10.1016/s0029-7844(01)01441-7.
32. Fortunato S.J., Menon R., Lombardi S.J. The effect of transforming growth factor and interleukin-10 on interleukin-8 release by human amniochorion may regulate histologic chorioamnionitis. Am. J. Obstet. Gynecol. 1998; 179 (3 cz. 1): 794–799. doi: 10.1016/s0002-9378(98)70085-7.
33. Fortunato S.J., Menon R., Lombardi S.J. Interleukin-10 and transforming growth factor-beta inhibit amniochorion tumor necrosis factor-alpha production by contrasting mechanisms of action: therapeutic implications in prematurity. Am. J. Obstet. Gynecol. 1997; 177 (4): 803–809. doi: 10.1016/s0002-9378(97)70272-2.
34. Burd I., Bentz A.I., Chai J. i wsp. Inflammation-induced preterm birth alters neuronal morphology in the mouse fetal brain. J. Neurosci. Res. 2010; 88 (9): 1872–1881. doi: 10.1002/jnr.22368.
35. Safarzadeh M., Richardson L.S., Kammala A.K. i wsp. A multi-organ, feto-maternal interface organ-on-chip, models pregnancy pathology and is a useful preclinical extracellular vesicle drug trial platform. Extracell Vesicle 2024; 3: 100035. doi: 10.1016/j.vesic.2024.100035.
36. Kammala A.K., Mosebarger A., Radnaa E. i wsp. Extracellular vesicles-mediated recombinant IL-10 protects against ascending infection-associated preterm birth by reducing fetal inflammatory response. Front. Immunol. 2023; 14: 1196453. doi: 10.3389/fimmu.2023.1196453.
37. Menon R., Richardson L., Kammala A.K. New approach methods on the bench side to accelerate clinical trials during pregnancy. Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. 2024; 20 (7): 555–560. doi: 10.1080/17425255.2024.2353944.
38. Jin J., Menon R. Placental exosomes: a proxy to understand pregnancy complications. Am. J. Reprod. Immunol. 2018; 79 (5): e12788. doi: 10.1111/aji.12788.
39. Salomon C., Nuzhat Z., Dixon C.L., Menon R. Placental exosomes during gestation: liquid biopsies carrying signals for the regulation of human parturition. Curr. Pharm. Des. 2018; 24 (9): 974–982. doi: 10.2174/1381612824666180125164429.
40. Kalluri R., LeBleu V.S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. Science 2020; 367 (6478): eaau6977. doi: 10.1126/science.aau6977.
41. Zhang J., Li H., Fan B., Xu W., Zhang X. Extracellular vesicles in normal pregnancy and pregnancy-related diseases. J. Cell Mol. Med. 2020; 24 (8): 4377–4388. doi: 10.1111/jcmm.15144.
42. Morgan T.K. Cell- and size-specific analysis of placental extracellular vesicles in maternal plasma and pre-eclampsia. Transl. Res. 2018; 201: 40–48. doi: 10.1016/j.trsl.2018.08.004.
43. Mitchell M.D., Peiris H.N., Kobayashi M. i wsp. Placental exosomes in normal and complicated pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol. 2015; 213 (supl. 4): S173–S181. doi: 10.1016/j.ajog.2015.07.001.
44. Menon R., Shahin H. Extracellular vesicles in spontaneous preterm birth. Am. J. Reprod. Immunol. 2021; 85 (2): e13353. doi: 10.1111/aji.13353.
45. Truong G., Guanzon D., Kinhal V. i wsp. Oxygen tension regulates the miRNA profile and bioactivity of exosomes released from extravillous trophoblast cells – liquid biopsies for monitoring complications of pregnancy. PLoS One 2017; 12 (3): e0174514. doi: 10.1371/journal.pone.0174514.
46. Cantonwine D.E., Zhang Z., Rosenblatt K. i wsp. Evaluation of proteomic biomarkers associated with circulating microparticles as an effective means to stratify the risk of spontaneous preterm birth. Am. J. Obstet. Gynecol. 2016; 214 (5): 631e1–631e11. doi: 10.1016/j.ajog.2016.02.005.
47. Bidarimath M., Khalaj K., Kridli R.T. i wsp. Extracellular vesicle mediated intercellular communication at the porcine maternal-fetal interface: a new paradigm for conceptus--endometrial cross-talk. Sci. Rep. 2017; 7: 40476. doi: 10.1038/srep40476.
48. Menon R., Debnath C., Lai A. i wsp. Protein profile changes in circulating placental extracellular vesicles in term and preterm births: a longitudinal study. Endocrinology 2020; 161 (4): bqaa009. doi: 10.1210/endocr/bqaa009.
49. Shepherd M.C., Radnaa E., Tantengco O.A. i wsp. Extracellular vesicles from maternal uterine cells exposed to risk factors cause fetal inflammatory response. Cell Commun. Signal. 2021; 19 (1): 100. doi: 10.1186/s12964-021-00782-3.
50. Sheller-Miller S., Trivedi J., Yellon S.M., Menon R. Exosomes cause preterm birth in mice: evidence for paracrine signaling in pregnancy. Sci. Rep. 2019; 9 (1): 608. doi: 10.1038/s41598-018-37002-x.
51. Sheller-Miller S., Radnaa E., Yoo J.K. i wsp. Exosomal delivery of NF-kappaB inhibitor delays LPS-induced preterm birth and modulates fetal immune cell profile in mouse models. Sci. Adv. 2021; 7 (4): eabd3865. doi: 10.1126/sciadv.abd3865.
52. Sheller-Miller S., Lei J., Saade G. i wsp. Feto-maternal trafficking of exosomes in murine pregnancy models. Front. Pharmacol. 2016; 7: 432. doi: 10.3389/fphar.2016.00432.
53. Sheller-Miller S., Choi K., Choi C., Menon R. Cyclic-recombinase-reporter mouse model to determine exosome communication and function during pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol. 2019; 221 (5): 502e1–502e12. doi: 10.1016/j.ajog.2019.06.010.
54. Shahin H.I., Radnaa E., Tantengco O.A.G. i wsp. Microvesicles and exosomes released by amnion epithelial cells under oxidative stress cause inflammatory changes in uterine cells. Biol. Reprod. 2021; 105 (2): 464–480. doi: 10.1093/biolre/ioab088.

55. Radnaa E., Richardson L.S., Sheller-Miller S. i wsp. Extracellular vesicle mediated feto-maternal HMGB1 signaling induces preterm birth. Lab. Chip. 2021; 21 (10): 1956–1973. doi: 10.1039/d0lc01323d.

56. Saylor L.M., Cherukuri R., Kammala A.K. i wsp. Exosomal delivery of interleukin-10 reduces infection-associated inflammation in a 3d-printed model of a humanized feto-maternal interface. FASEB J. 2025; 39 (10): e70634. doi: 10.1096/fj.202500545R.

57. Harrington B., Thomas T.J., Tatiparthy M. i wsp. Exosomal delivery of IL-10: biodistribution, pharmacokinetics, and preterm birth prevention strategies. Extracell Vesicle 2025; 5: 100066. doi: 10.1016/j.vesic.2025.100066.