

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2023

DENISA MENTLOVÁ

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví (B0914P360004)

Denisa Mentlová

Morfologické změny v placentách asociované s onemocněním

COVID-19

Bakalářská práce

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

PLZEŇ 2023

Zde se v tištěné verzi nachází zadání BP

Zde se v tištěné verzi nachází zadání BP

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval/a samostatně a všechny použité prameny jsem uvedl/a v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 31. 3. 2023

.....

vlastnoruční podpis

Abstrakt

Příjmení a jméno: Mentlová Denisa

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Morfologické změny v placentách asociované s onemocněním COVID-19

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

Počet stran – číslované: 41

Počet stran – nečíslované: 22

Počet příloh: 2

Počet titulů použité literatury: 32

Klíčová slova: placenta, zánět, COVID-19, SARS-CoV-2, placentitida

Souhrn:

Infekce SARS-CoV-2 v graviditě může vést k závažným komplikacím. V souvislosti s touto infekcí byly zaznamenány případy předčasného porodu, intrauterinní růstové restrikce i nitroděložního odumření plodu. V současné době se předpokládá, že tyto komplikace vznikají v důsledku poškození placentární tkáně virovým zánětem. Obávaný transplacentární přenos infekce z matky na plod je vzácný.

V teoretické části bakalářské práce jsou shrnuty informace o vývoji, anatomii a funkci placenty a dále o placentárních zánětech se zvláštním přihlédnutím k morfologii nově definované SARS-CoV-2 placentitidy.

Praktická část bakalářské práce je zaměřena především na vyhodnocení klinicko-patologických údajů získaných z dokumentace a jejich srovnání s literárními údaji. Minoritní část je věnována ověření účinnosti imunohistochemického barvení v diferenciální diagnostice SARS-CoV-2 placentitidy.

Abstract

Surname and name: Mentlová Denisa

Department: Department of Rescue Services and Technical Fields

Title of thesis: Morphological changes in placentas associated with COVID-19

Consultant: MUDr. Magdaléna Daumová, Ph.D.

Number of pages – numbered: 41

Number of pages – unnumbered: 22

Number of appendices: 2

Number of literature items used: 32

Keywords: placenta, inflammation, COVID-19, SARS-CoV-2, placentitis

Summary:

SARS-CoV-2 infection in pregnancy can lead to serious complications. Preterm births, intrauterine growth restriction and intrauterine fetal demise have been reported in association with this infection. It is believed that these complications arise as a result of damage to placental tissue by inflammation. The dreaded transplacental transmission of infection from mother to fetus is rare.

The theoretical part of the bachelor thesis summarizes basic information on the development, anatomy and function of the placenta as well as placental inflammations with special consideration to the morphology of the newly defined SARS-CoV-2 placentitis.

The practical part of the bachelor thesis is mainly focused on evaluation of clinic-pathological data obtained from medical documentation and their comparison with current literature. A minor part is devoted to the verification of the efficacy of immunohistochemical staining in the differential diagnosis of SARS-CoV-2 placentitis.

Předmluva

Tato bakalářská práce na téma koronavirové placentitidy, mě už od samého začátku velice zaujala. Jeden z důvodů byla možnost pracovat na originálním a zároveň aktuálním tématu. Také získat hlubší odborné znalosti o placentě a o jejím významu pro matku a plod.

Přesto, že již dnes víme o koronavirové placentitidě mnoho informací, zůstává stále řada věcí (především na molekulární úrovni) neobjasněna. Toto téma tedy dozajista bude předmětem dalšího výzkumu.

Poděkování

Chtěla bych poděkovat MUDr. Magdaléně Daumové, Ph.D za odborné vedení práce, poskytování cenných rad a materiálů a především za její neuvěřitelnou trpělivost a ochotu.

OBSAH

| | |
|--|----|
| SEZNAM GRAFŮ | 11 |
| SEZNAM OBRÁZKŮ | 12 |
| SEZNAM TABULEK | 13 |
| SEZNAM ZKRATEK | 14 |
| ÚVOD..... | 16 |
| TEORETICKÁ ČÁST | 17 |
| 1 PLACENTA | 17 |
| 1.1 Vývoj placenty | 17 |
| 1.2 Anatomie placenty | 18 |
| 1.2.1 Fetální část placenty | 18 |
| 1.2.2 Mateřská část placenty..... | 19 |
| 1.3 Funkce placenty | 19 |
| 1.3.1 Endokrinní funkce placenty..... | 19 |
| 1.3.2 Imunitní funkce placenty | 20 |
| 1.4 Pupečník..... | 20 |
| 1.5 Cirkulace krve v placentě..... | 21 |
| 2 KORONAVIRY | 22 |
| 2.1 COVID 19..... | 23 |
| 2.2 Původce onemocnění | 24 |
| 2.3 Příznaky onemocnění..... | 25 |
| 2.4 Přenos a prevence přenosu..... | 25 |
| 3 PLACENTITIDA | 25 |
| 3.1 Záněty placenty infekční etiologie..... | 26 |
| 3.1.1 Ascendentní záněty placenty | 26 |
| 3.1.2 Hematogenní záněty placenty..... | 26 |
| 3.2 Chronické záněty placenty neinfekční etiologie | 27 |
| 3.2.1 Chronická neinfekční vilitida (Villitis of Unknown Etiology, VUE) | 27 |
| 3.2.2 Chronická chorioamnionitida | 28 |
| 3.2.3 Chronická (lymfoplasmocytární) decidualitida..... | 28 |
| 3.2.4 Eosinofilní/T-buněčná vaskulitida cév choriové plotny (Eosinophilic/T-cell chorionic vasculitis, ETCV) | 28 |
| 3.2.5 Chronická histiocytární intervilositida | 29 |
| 4 KORONAVIROVÁ PLACENTITIDA..... | 29 |
| 4.1 Přenos infekce z matky na placentární tkáň / plod | 29 |
| 4.2 Současné poznatky o onemocnění | 30 |
| 4.3 Změny v placentě u SARS-CoV-2 placentitidy..... | 31 |

| | | |
|-------|--|----|
| 5 | IMUNOHISTOCHEMIE..... | 34 |
| 5.1.1 | Reakce antigen-protilátka..... | 34 |
| 5.2 | Odběr materiálu na histologické vyšetření | 34 |
| 5.3 | Zpracování a makroskopický popis placenty..... | 35 |
| 5.4 | Výroba histologických preparátů..... | 35 |
| 5.5 | Zpracování materiálu pro imunohistochemické vyšetření a postup barvení imunohistochemických preparátů..... | 36 |
| 5.6 | Metody průkazu antigenu ve tkáni..... | 36 |
| 5.6.1 | Přímá metoda..... | 36 |
| 5.6.2 | Nepřímá dvojstupňová metoda..... | 37 |
| 5.6.3 | Nepřímá trojstupňová metoda | 37 |
| 5.7 | Protilátky využívané při vyšetření SARS-CoV-2 placentitidy. | 37 |
| | PRAKTICKÁ ČÁST | 38 |
| 6 | CÍL VÝZKUMU | 38 |
| 7 | VÝZKUMNÉ OTÁZKY | 39 |
| 8 | CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU | 40 |
| 9 | METODIKA PRÁCE | 41 |
| 9.1 | Výběr sledovaného souboru..... | 41 |
| 9.2 | Interpretace získaných dat a jejich hodnocení | 41 |
| 9.3 | Výběr vzorků pro imunohistochemické vyšetření | 41 |
| 9.4 | Příprava preparátů k imunohistochemickému vyšetření a jejich hodnocení | 42 |
| 10 | VÝSLEDKY | 43 |
| | DISKUZE | 52 |
| | ZÁVĚR..... | 56 |
| | SEZNAM LITERATURY..... | 57 |
| | SEZNAM PŘÍLOH | 61 |
| | PŘÍLOHY | 62 |

SEZNAM GRAFŮ

| | |
|--|----|
| Graf 1 Poměr mezi počtem všech vyšetřených placent a potvrzených případů SARS-CoV-2 placentitidy | 46 |
| Graf 2 Varianty SARS-CoV-2 prokázané v placentě | 47 |
| Graf 3 Poměr mezi živě narozenými a nitroděložně odumřelými plody s prokázaným koronavirovým zánětem v placentě | 49 |

SEZNAM OBRÁZKŮ

| | |
|---|----|
| Obrázek 1 Anatomie zralé placenty a placentární cirkulace (průřez) | 22 |
| Obrázek 2 Placenta předčasně porozeného plodu (g.h. 28+1) s makroskopicky patrnými ložisky perivilózního fibrinoidu | 32 |
| Obrázek 3 Placenta potraceného plodu (g.h. 19+2) s neostře ohraničenými šedožlutými ložisky odpovídajícími perivilóznímu fibrinoidu | 32 |
| Obrázek 4 Histiocytární intervilosita s masivními depozity perivilózního fibrinoidu (HE, 100x)..... | 33 |
| Obrázek 5 Imunohistochemický průkaz nukleokapsidového proteinu viru SARS-CoV-2 v cytoplasmě vilózního trofoblastu (SARS2 – BioSB, 100x). | 50 |

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Potvrzené případy SARS-CoV-2 placentitidy 43

Tabulka 2 Nitroděložně odumřelé plody..... 48

SEZNAM ZKRATEK

| | |
|-----------------------|---|
| ABC | Avidin-biotinový komplex |
| ACE2 | Angiotensin konvertující enzym 2 |
| Bi-bi | Bichoriální biaminální dvojčata |
| CD | Diferenční skupina (Cluster of Differentiation) |
| CMV | Cytomegalovirus |
| CoV | Koronavirus |
| COVID-19 | Koronavirové onemocnění 2019 (Covid Disease 2019) |
| CTG | Kardiotokografie |
| DM | Diabetes mellitus |
| ETCV | eosinofilní / T-buněčná vaskulitida cév choriové plotny (Eosinophilic/T-cell chorionic vasculitis) |
| FVM | Fetální vaskulární malperfúze |
| g.h. | Těhotenské stáří (Graviditas hebdomadis) |
| GDM | Gestační diabetes mellitus |
| hCG | Humánní choriový gonadotropin (Human Chorionic Gonadotropin) |
| HCoV | Lidský koronavirus (Human Coronavirus) |
| HSV | Herpes simplex virus |
| HT | Hypertenze |
| Ig G | Imunoglobulin G |
| IUGR | Intrauterinní růstová restrikce (Intrauterine Growth Re- striction) |
| JT | Jaterní transaminázy |

| | |
|-----------------------|---|
| MAC | Membrane attack complex |
| MERS-CoV | Blízkovýchodní těžký akutní respirační syndrom související s koronavirem (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus) |
| MVM | Mateřská vaskulární malperfúze |
| Mo-bi | Monochoriální biamniální dvojčata |
| PCR | Polymerázová řetězová reakce (Polymerase Chain Reaction) |
| RNA | Ribonukleová kyselina (Ribonucleic Acid) |
| SARS-CoV | Těžký akutní respirační syndrom související s koronavirem (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus) |
| TMPRSS2 | Transmebránová serinová proteáza 2 (Transmembrane Protease Serine 2) |
| TORCH | Toxoplasmóza, Ostatní, Rubeola, Cytomegalovirus, Herpes simplex virus |
| VUE | Vilitida neznáme etiologie (Villitis of Unknown Etiology) |
| WHO | Světová zdravotnická organizace (World Health Organisation) |

ÚVOD

Správné fungování placenty má zásadní význam pro vývoj plodu. Existuje celá řada patologických stavů, které mohou její funkci negativně ovlivnit. Od počátku pandemie onemocnění COVID-19 byla hlášena řada případů onemocnění těhotných žen, u nichž tato infekce vedla k předčasnému porodu, růstové restrikci nebo dokonce nitroděložnímu odumření plodu. V současné chvíli je známo, že tyto závažné komplikace vyplývají z poškození placentární tkáně.

Rozšíření viru SARS-CoV-2 z mateřské krve do placenty může vyvolat zánět známý jako SARS-CoV-2 placentitida. Tento zánět způsobuje poškození choriových klků a ve většině případů je doprovázen zvýšeným ukládáním bílkovinného materiálu v intervilózních prostorech placenty, kde se za normálních okolností nachází krev matky bohatá na kyslík a živiny. V poměrně krátké době tak může dojít k významnému poškození placentárních funkcí.

Tato bakalářská práce je rozdělena na dvě části. V teoretické části, jsou shrnuty základní informace o vývoji, anatomii a funkci placenty. Další kapitola je věnována zánětům placenty včetně nově definované SARS-CoV-2 placentitidy. V poslední části teorie jsou uvedeny základní informace o laboratorním zpracování placenty a o imunohistochemickém vyšetření. Praktická část je zaměřena na statistické vyhodnocení dat získaných z nemocničního informačního systému a jejich porovnání s výsledky současných prací na toto téma.

TEORETICKÁ ČÁST

1 PLACENTA

Placenta je dočasný, avšak velice složitý a důležitý orgán. V průběhu těhotenství slouží jako plíce, střeva, ledviny i játra plodu. Mezi matkou a plodem zprostředkovává funkční propojení a zajišťuje látkovou výměnu. (BURTON, Graham J, 2015; Baergen 2011)

1.1 Vývoj placenty

Placenta se začíná vyvíjet velmi brzy po fertilizaci z vnější vrstvy buněk blastocysty zvané trofoblast. Tento orgán zastává řadu důležitých funkcí a jeho správné fungování je pro graviditu zcela zásadní. Histologické vyšetření placenty patologem může podat klinickým lékařům důležité informace o průběhu gravidity i o patologických stavech plodu.

Vývoj placenty nastává po uhníždění blastocysty v endometriu dělohy matky. V této fázi je sliznice dobře prokrvená, neboť se nachází na vrcholu sekreční fáze. Žlázy sliznice, které jsou rozšířené a stočené, produkují hlenovitý sekret. Po uhníždění blastocysty vznikají v endometriu velké změny, které nazýváme *deciduální reakce*. Látky, které produkuje blastocysta, jsou velmi podobné hormonům. Za přítomnosti těchto látek sliznice začíná růst a hrubnout. Dochází k velkému rozmnožení a rozvětvení cév kolem blastocysty. Změna nastává i v endometriu, kde se vazivové buňky transformují na tzv. *deciduální buňky*.

Takto přeměněná sliznice se nazývá *deciduou*. Rozdělujeme jí na čtyři části. Pod blastocystou se nachází *decidua basalis*, která je důležitá pro vznik placenty. Po stranách blastocysty je *decidua marginalis*. *Decidua capsularis* se nachází pod blastocystou směrem do dutiny dělohy. Zbytek změněné sliznice dělohy se nazývá *decidua perietalis*.

Současně s *deciduálními* změnami probíhá proliferace buněk blastocysty. Na povrchu se nachází trofoblast, který je zásadní při vzniku placenty. Jsme schopni rozlišit tři formy trofoblastu. Vnitřní vrstva buněk blastocysty se nazývá *cytotrofoblast*. Buňky cytotrofoblastu se vyznačují vysokou proliferační schopností a jsou zdrojem pro vznik dalších typů buněk trofoblastu. Druhá forma trofoblastu se nazývá *intermediární trofoblast*, který představuje přechod mezi *syncytiotrofoblastem* a *cytotrofoblastem*. Vnější vrstva blastocysty je tvořena *syncytiotrofoblastem*, který se vyvíjí z *cytotrofoblastu*. (Kapeller a Pospíšilová 2001)

V průběhu placentace se trofoblast diferencuje v trofoblast vilózní a extravilózní. Vilózní trofoblast je tvořen buňkami syncytiotrofoblastu a cytotrofoblastu. Roste společně s choriovými klky, které pokrývá. Extravilózní trofoblast se převážně skládá z intermediárního trofoblastu a zodpovídá za infiltraci přeměněného děložního endometria.

Přibližně od desátého dne se v syncytiotrofoblastu začínají objevovat vakuoly, které splývají do dutinek neboli lakun. Spojené lakuny vytvářejí prostorovou síť, která je základem pro budoucí intervilózní prostory. Maternální krev ze spirálních arterioli stěny děložní, začne postupně proudit do těchto prostor. Díky tomu vzniká tzv. *uteroplacentární oběh*.

Mezi druhým a třetím týdnem vývoje se začínají vyvíjet choriové klky z choriové ploty, která vznikla z trofoblastu. Základ pro primární choriové klky, které vznikají na konci druhého týdne, je vrůstání buněk cytotrofoblastu do výběžků syncytiotrofoblastu. Přibližně čtrnáctý den vývoje vznikají sekundární choriové klky, v nich se vyskytují mesenchymální buňky pocházející z extraembryonálního mesodermu. Ve třetím týdnu vznikají v sekundárních klcích krevní kapiláry. Takto změněné klky se nazývají terciární klky. Vývoj těchto kapilár vytváří předpoklad pro úspěšnou výměnu látek mezi mateřskou a fetální krví. (Kapeller a Pospíšilová 2001)

Po celém obvodu choriové plotny se vyskytují terciární choriové klky a tvoří tzv. *chorion frondosum*. Na začátku 2. měsíce gravidity v dalších oblastech deciduy choriové klky atrofují a dávají tak vzniknout tzv. *chorion laeve*. *Chorion frondosum* spolu s *decidua basalis* vytváří placentu. (Kapeller a Pospíšilová 2001)

1.2 Anatomie placenty

Lidská placenta je orgán diskovitého tvaru. Placenta donošeného plodu (g.h. 40±2 týdny) má průměr 15 – 20 cm, tloušťku 2 – 3 cm a hmotnost přibližně 500 g. Placentu rozdělujeme na 2 části. Fetální lesklou část, která je obrácená k plodu, a na mateřskou část adheřující ke stěně děložní.

1.2.1 Fetální část placenty

Plodová část placenty je pokryta jednovrstevným kubickým amniovým epitelem. Pod tímto epitelem prosvítají cévy plodu, které se sbíhají k úponu pupečníku. Samotná choriová plotna je tvořena řídkým vazivem z extraembryonálního mezenchymu. Z choriové plotny odstupují choriové klky, které tvoří základní stavební jednotku placentární tkáně. Povrch choriových klků je kryt dvěma vrstvami buněk – vnitřní vrstvou zvanou cytotrofoblast

a vnější vrstvou zvanou syncytiotrofoblast. Na začátku gravidity jsou choriové klky krátké a široké. V posledních měsících těhotenství vyžívají a mění svůj tvar. Vzniká v nich bohatá síť větvících se fetálních cév. Z hlediska morfologického můžeme klky rozdělit na kmenové, volné a větvené. Kmenové klky prostupují celou placentou a prorůstají až k bazální deciduy. Kmenové klky se nadále větví na nezralé a zralé intermediární klky. Nezralé choriové klky jsou zakončeny mezenchymálními klky. Zralé intermediární choriové klky jsou zakončeny řadou terminálních choriových klků s početnými vaskulosyncytiálními membránami. Na úrovni terminálních klků dochází k neefektivnější výměně látek mezi mateřskou a fetální krví. (Balko et al. 2017)

1.2.2 Mateřská část placenty

Mateřská část je na povrchu tmavě červená. Je složena z děložních žlázek a deciduálních buněk. Tyto buňky jsou velké a bohaté na tuky a glykogen. Látky obsažené v deciduálních buňkách jsou zdrojem prvních živin pro zárodek.

Deciduální / bazální plotna vzniká z *decidua basalis*. Z této ploténky vyrůstají placentární septa směrem k fetální části placenty. Septa rozdělují placentu na 15 – 20 funkčních segmentů zvaných kotyledony. (Balko et al. 2017)

1.3 Funkce placenty

Placenta zprostředkovává přísun látek nutných pro růst a výživu plodu z krve matky. Neméně důležitou úlohou je odstraňování katabolitů z krve plodu. Malé molekuly mohou mezi mateřským a fetálním krevním řečištěm (na úrovni vaskulosyncytiálních membrán choriových klků) volně difundovat. Látky větší velikosti prostupují placentou za pomoci aktivního transportu. Jiné látky využívají princip pasivní difúze nebo také facilitované difúze (např. glukóza). Důležitou funkcí placenty je výměna kyslíku a oxidu uhličitého mezi mateřským a fetálním krevním řečištěm. Významnou roli hraje fetální hemoglobin, který má na rozdíl od adultního typu hemoglobinu větší afinitu ke kyslíku. Dalším mechanismem, který podporuje transport kyslíku je i zvýšená tepová frekvence plodu. (Silbernagl 2004)

1.3.1 Endokrinní funkce placenty

Placenta syntetizuje řadu hormonů ale i enzymů. Jeden z důležitých hormonů je lidský choriový gonadotropin (hCG). Ten je nejprve produkován buňkami syncytiotrofoblastu. Tvorba hCG začíná velmi záhy po oplození a jeho přítomnost v krvi, resp. v moči slouží

k detekci gravidity. Nejvyšší koncentrace hCG v krvi matky je dosažena kolem 8. – 11. týdne, poté se jeho hladina snižuje. hCG potlačuje další tvorbu folikulů v ovariích a zároveň stimuluje růst žlutého tělíska, které produkuje estrogen a progesteron, až do doby, kdy syntézu těchto hormonů převezme placenta.

Estrogen a progesteron se uplatňují při deciduální přeměně děložní sliznice, která je nezbytná pro nidaci blastocysty. Estrogeny se podílejí na růstu mléčné žlázy a to jak přímo, tak nepřímo prostřednictvím zvyšování hladiny prolaktinu. Dále stimuluje průtok krve placentou. Progesteron je hormon, který udržuje těhotenství. Důležitou funkcí progesteronu je snížení kontraktility děložní stěny, což snižuje riziko samovolného potratu. Působení progesteronu má i vliv na rozvoj lobuloalveolárního systému mléčné žlázy

Choriový somatotropin (neboli lidský placentární laktogen) působí jako růstový hormon, podporuje vývoj a růst mléčné žlázy a má pozitivní vliv na laktaci. Podílí se na metabolismu glukózy a lipidů u matky a u plodu zvyšuje dostupnost glukózy. (Trojan 1999)

1.3.2 Imunitní funkce placenty

Placenta vytváří imunologické rozhraní mezi matkou a plodem a díky molekulárním interakcím, které se odehrávají na fetomaternálním rozhraní je navozena tolerance matky vůči plodu, který nese antigeny otce. Placentární bariéra do jisté míry brání vstupu mikroorganismů a toxických látek z krve matky do krve plodu. Bohužel ale tato bariéra nefunguje stoprocentně. Důležitou imunologickou funkcí placenty je aktivní transport mateřských protilátek mechanismem pinocytózy. Placentou procházejí do krve plodu výhradně protilátky typu IgG. Ty mu poskytují pasivní imunitu proti některým infekčním agens. (Pospíšilová 2015)

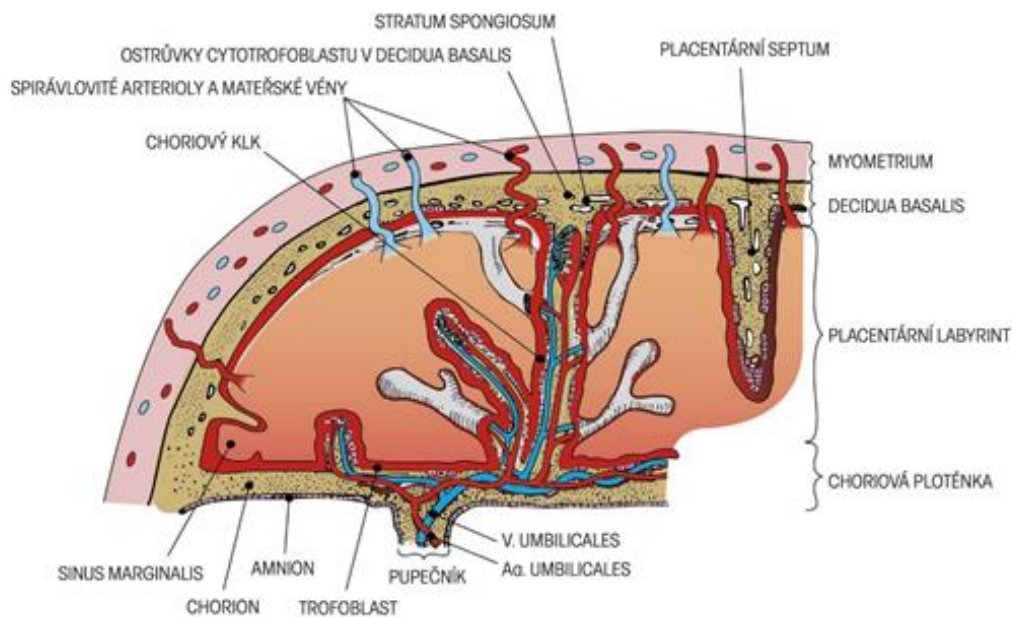
1.4 Pupečník

Pupečník je provazec, který spojuje plod s placentou. U donošeného plodu má pupečník délku přibližně 50 cm a průměr 1,5 cm. Zevní obal pupečníku je tvořen jednovrstevným plochým až kubickým amniovým epitelem. V pupečníku probíhají 3 cévy. Dvě arterie, které odvádí odkysličenou krev z plodu, a jedna vena, která naopak přivádí okysličenou krev z placenty k plodu. Tyto umbilikální cévy jsou uloženy v měkké tkáni nazývané Whartonův rosol, který vzniká z embryonálního mezodermu. (Kobilková 2005; Čech 1999)

1.5 Cirkulace krve v placentě

Okysličená krev z mateřského krevního oběhu je spirálními arterioly v bazální plotně přiváděna do intervilózních prostor, kde se dostává do přímého kontaktu s choriovými klky, v nichž koluje krev fetální. Okysličená krev se vlasečnicemi v choriových klcích dostává do cév choriové plotny a jednou umbilikální venou je transportována do krevního oběhu plodu. Játra plodu, do nichž je krev směřována, by však všechny kyslík spotřebovala a tak je část krve odváděna cestou *ductus venosus* přímo do dolní duté žíly. Krev následně putuje do pravostranných srdečních oddílů a přes otevřené *foramen ovale* proudí do levostranných oddílů srdce, odkud je transportována do aorty a systémového oběhu plodu. Odkysličená krev je odváděna dvěma umbilikálními arteriemi do cév choriových klků a oxid uhličitý a další katabolity přechází difúzí do intervilózních prostor. Následně se mateřská krev chudá na kyslík vrací zpět do bazální plotny a žilami v bazální plotně je odváděna do mateřské cirkulace. (Wilhelmová 2021)

Obrázek 1. Anatomie zralé placenty a placentární cirkulace (průřez)



Zdroj: WILHELMOVÁ, Radka. *Vznik a vývoj těhotenství | Vybrané kapitoly Porodní asistence I a II | Lékařská fakulta Masarykovy univerzity [online] [vid. 2022-12-06]. Dostupné z: https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/lf/ps20/porodni_asistence/web/pages/02_06_vyvoj_placenty.html*

2 KORONAVIRY

Koronaviry (CoV) jsou velká rodina jednořetězcových RNA virů. Tyto viry mohou infikovat zvířata a také lidi. Způsobují respirační, gastrointestinální, jaterní a neurologická onemocnění. Rozlišují se 4 hlavní podskupiny: alfa-koronavirus (229E, NL63), beta-koronavirus (OC43, HKU1, MERS-CoV, SARS-CoV), gama-koronavirus a delta-koronavirus. (Yang a Leibowitz 2015), (Wölfel et al. 2020)

Běžné lidské koronaviry zahrnují typy 229E, NL63, OC43 a HKU1. Tyto viry způsobují většinou mírné infekce horních cest dýchacích. Mezi další lidské koronaviry, které původně způsobovaly onemocnění zvířat, patří MERS-CoV a SARS-CoV a nový koronavirus 2019-nCoV (SARS-CoV-2). MERS (*Middle East Respiratory Syndrome*) byl poprvé objeven v roce 2012 v Saudské Arábii, odkud se rozšířil i do dalších zemí. MERS se stále ještě objevuje v oblasti arabského poloostrova. Infekce se projevuje horečkou, kašlem, dušností, a zánětem plic. Mortalita je vysoká (umírají 3 až 4 pacienti z deseti). SARS (*Severe Acute*

Respiratory Syndrome) byl poprvé hlášen v Číně v roce 2002 a byl provázen zimnicí, horečkou a zánětem plic.

Zdá se, že se u lidí pravidelně objevují nové koronaviry, zejména kvůli jejich široké distribuci, velké genetické diverzitě a časté rekombinaci jejich genomů.

2.1 COVID-19

Na konci roku 2019 Čína ohlásila několik případů zápalu plic neznámého původu. Sekvenováním metagenomické RNA a izolací viru ze vzorků tekutiny z bronchoalveolární laváže od pacientů s těžkou pneumonií identifikoval nezávislý tým čínských vědců dříve nepozorovaný beta-koronavirus. Onemocnění se poprvé objevilo u lidí, kteří pracovali nebo navštěvovali trhy ve městě Wu-Chan, kde se prodávají, zpracovávají a konzumují mořské plody, ryby, netopýři, ptáci i jiné živočišné produkty. Začátkem ledna 2020 bylo identifikováno více pacientů, kteří předtím tyto trhy nenavštěvovali. Bylo hlášeno několik familiárních výskytů a ve zdravotnických zařízeních se také vyskytla nozokomiální infekce. Všechny tyto případy poskytují jasný důkaz o přenosu nového viru z člověka na člověka.

Vzhledem k tomu, že se epidemie shodovala s příchodem lunárního Nového roku, cestování mezi městy před festivalem usnadnilo přenos viru v Číně. Tento nový koronavirový zápal plic se brzy rozšířil do dalších měst v provincii Chu-pej a do dalších částí Číny. Během 1 měsíce se masivně rozšířil do všech 34 provincií Číny. Počet potvrzených případů se náhle zvýšil a koncem ledna byly denně diagnostikovány tisíce nových případů. Dne 30. ledna 2020 prohlásila Světová zdravotnická organizace (WHO) šíření nového koronaviru za stav ohrožení veřejného zdraví. Dne 11. února 2020 Mezinárodní výbor pro taxonomii virů pojmenoval nový koronavirus „SARS-CoV-2“ a WHO nazvala nemoc „COVID-19“. Propuknutí onemocnění COVID-19 v Číně dosáhlo epidemického vrcholu v únoru. Podle Čínské národní zdravotní komise celkový počet případů na začátku února nadále prudce rostl průměrnou rychlostí více než 3 000 nově potvrzených případů denně. Pro kontrolu onemocnění COVID-19 Čína zavedla bezprecedentně přísná opatření v oblasti veřejného zdraví. Město Wu-Chan bylo uzavřeno 23. ledna 2020. Veškerá doprava města byla zablokována. V následujících několika týdnech byly všechny venkovní aktivity a shromáždění omezeny a veřejná zařízení byla uzavřena. Díky těmto opatřením začal denní počet nových případů v Číně klesat.

Navzdory klesajícímu trendu v Číně se však mezinárodní šíření onemocnění COVID-19 od konce února 2020 zrychlilo. Vysoká infekčnost SARS-CoV-2 a hojnost mezinárodního cestování umožnily rychlé celosvětové šíření onemocnění COVID-19. Dne 11. března 2020 WHO oficiálně vyhlásila propuknutí globální pandemie onemocnění COVID-19. Ačkoli od března 2020 Čína účinně kontrolovala šíření onemocnění COVID-19, počet případů v Evropě, Americe i dalších regionech prudce vzrostl. K 11. srpnu 2020 bylo hlášeno více než 20 milionů případů COVID-19 a více než 733 000 úmrtí z 216 zemí a území na šesti kontinentech. K vysoké úmrtnosti docházelo zejména při přetížení lékařských zdrojů. (Hu et al. 2021)

Po zavedení celosvětových opatření došlo k průběžnému snižování počtu nakažených. Přispěla tomu i inovace vakcíny, která zmírňovala příznaky onemocnění. Od ledna roku 2020 bylo po celém světě zaznamenáno přibližně 640 milionů lidí s nákazou COVID-19. Na tuto zákeřnou nemoc zemřelo více než 6,5 milionu lidí. Toto číslo se však každým dnem stále mírně zvyšuje. Naštěstí ne v tak velkém měřítku jako v minulých letech. (Johns Hopkins University 2020)

2.2 Původce onemocnění

Sekvence SARS-CoV-2 se z více než 70 % shoduje s genetickou informací SARS-CoV (Hui et al. 2020). Předpokládá se, že zdrojem viru byli netopýři. Původně se myslelo, že k přenosu infekce na člověka mohlo dojít přímo, protože sušené části těl netopýřů se používají v čínské lidové medicíně. Virus, který byl izolován z netopýřů, se však od virů, které se přenášejí mezi lidmi, liší v několika aminokyselinách klíčových pro vazbu na lidské buňky. Proto se zdá, že k přenosu na člověka došlo přes mezihostitele (např. hady, norky nebo želvy). Zvlášť diskutovány jsou luskouni, jejichž maso se v Číně konzumuje a některé části jejich těl se rovněž používají v lidové medicíně. Molekulárně genetické analýzy prokázaly, že sekvence RNA izolovaná z koronaviru luskounů byla shodná v doméně odpovědné za vazbu na lidské buňky. (Cyranovski 2020; Zhang 2020)

Na stavbě virionu koronaviru SARS-CoV-2 se podílejí čtyři strukturní proteiny. Obal viru tvoří dvojvrstva fosfolipidů, pod níž je přítomen nukleokapsidový protein N s navázanou ribonukleovou kyselinou viru. Do obalu virionu jsou zavzaty proteiny S (*Spike protein*), E (*Envelope protein*) a M (*Membrane protein*). Spike protein je klíčový pro vstup koronaviru do lidské buňky. Tento protein se váže na angiotenzin konvertující enzym 2 (ACE2), který

je exprimovaný na povrchu vnímavých buněk včetně placenty. (Hu et al. 2020; Daumová et al. 2021).

2.3 Příznaky onemocnění

Příznaky onemocnění se projeví v průměru za 5–6 dní od nákazy; inkubační doba se však pohybuje od 1 do 14 dnů. Průběh onemocnění COVID-19 může být asymptomatický, mírný i velmi těžký. Díky analýze bylo zjištěno, že u 80 % případů probíhá onemocnění s lehkým průběhem, bez pneumonie nebo s nezávažnou pneumonií. U 14 % pacientů s COVID-19 je evidován závažný průběh onemocnění vyžadující hospitalizaci a 6 % případů má kritický průběh onemocnění, který může skončit smrtí. Nejzávažnější průběh onemocnění, či úmrtí, se nejčastěji vyskytl u starších osob a osob s komorbiditami. Těžký průběh onemocnění byl často evidován u obézních pacientů. Častým klinickým příznakem onemocnění COVID-19 je ztráta čichu nebo chuti, horečka, kašel, dušnost, myalgie (bolesti svalstva) a únava. Typické jsou i snížené hladiny T-lymfocytů, zjištěné u 45 % pacientů. Méně častými příznaky mohou být průjem nebo zvracení. V průběhu onemocnění se i při původně mírném onemocnění mohou vyvinout komplikace v podobě pneumonie, tromboembolických komplikací či dysregulace zánětlivé odpovědi. (John et al. 2021)

2.4 Přenos a prevence přenosu

Koronaviry se šíří z člověka na člověka prostřednictvím úzkého kontaktu. Jedná se o tzv. kapénkovou infekci, která se šíří vzduchem. Šíří se kapénkami do vzdálenosti 4 - 5 metrů a ulpívá na površích, kde zůstává infekční několik hodin. Vstupními branami těla jsou dutina ústní a nosní a sliznice očí.

Jako základní ochranné prostředky by měly být používány masky FFP3, jednorázové latexové rukavice a speciální brýle nebo masky, které dokážou dokonale chránit oči. Na základě zkušeností s viry ptačí chřipky a SARS jsou však tyto viry velmi citlivé na dezinfekci plyným chlorem a ultrafialovým zářením, takže kontaminace pitné vody nehrozí. Pro účinnou dezinfekci se doporučuje použití virucidních gelů, mýdel a roztoků. (Vašut 2020)

3 PLACENTITIDA

Placentitida neboli zánět placenty je jeden z nejčastějších patologických stavů, které placentu postihují. Příčinou většiny zánětů jsou infekce. Druhou skupinou jsou záněty neinfekční etiologie, které jsou sice méně časté, ale neméně důležité. Tato skupina zánětů je zapříčiněna reakcí mateřského imunitního systému na antigeny plodu. Záněty infekčního i

neinfekčního původu mohou negativně ovlivnit průběh gravidity, vývoj plodu i postnatální vývoj novorozence. (Daumová et al. 2021)

3.1 Záněty placenty infekční etiologie

Placenta a plodové obaly mohou být infikovány několika cestami. Ascendentní záněty jsou způsobeny především bakteriemi a mykoorganismy, které do placenty pronikají z pochvy a děložního hrdla. Hematogenní záněty placenty jsou způsobeny průnikem mikroorganismů do placenty z krve matky. Původci těchto zánětů jsou především viry a protozoa. Vzácně může dojít k přenosu infekce při invazivních zákrocích jako je např. amniocentéza, amnioskopie nebo kordocentéza. (Ježková et al. 2015)

3.1.1 Ascendentní záněty placenty

Ascendentní zánět placenty je stav, při kterém se bakterie z pochvy nebo děložního čípku šíří porodními cestami a infikují plodovou vodu. Reakce organismu na ascendentní infekci plodové vody bakteriemi či mykoorganismy je akutní zánět plodových obalů, choriové plotny a pupečníku. Bakterie nebo bakteriální protein v plodové vodě vyvolávají zánětlivou reakci matky i plodu. Pokud se neutrofilové rozšíří do choria a amnia, je tento stav označován jako akutní chorioamnionitida. Ta může vést ke komplikacím jak u matky, tak u dítěte. Akutní chorioamnionitida může vést k předčasnému porodu či potratu, aspirace infikované plodové vody může být příčinou adnatní pneumonie u plodu, u matky může těžký zánět vzácně vést k sepsi. Včasná diagnostika a léčba antibiotiky je zásadní pro prevenci vážných následků. (Kim et al. 2010)

3.1.2 Hematogenní záněty placenty

Hematogenní zánět je způsoben šířením infekce z krve matky do placenty. Tímto způsobem se mohou šířit bakterie, viry i protozoa. Vzhledem k tomu, že místem prvního kontaktu jsou intervilózní prostory a choriové klky, projevuje se zánět obvykle jako intervilositida a/nebo vilitida. Tyto záněty mohou významně poškodit placentární tkáň a narušit výměnu živin a kyslíku mezi matkou a vyvíjejícím se plodem. To může vést ke komplikacím plodu, jako je omezení růstu, předčasný porod nebo nitroděložní odumření. Pokud je podezření na hematogenní zánět placenty, je důležité diagnostikovat a léčit základní infekci co nejdříve, aby se minimalizovalo možné poškození plodu. Léčba může zahrnovat antibiotika, antivirové léky, nebo jiné intervence, v závislosti na konkrétní příčině zánětu. (Tita a Andrews 2010; Adams Waldorf a McAdams 2013)

3.1.2.1 Adnátní listerióza

Listerióza je závažná hematogenní infekce způsobená bakterií *Listeria monocytogenes*. Těhotná žena se typicky nakazí požitím kontaminovaných potravin, jako jsou zrající sýry, nepasterizované mléko či nedokonale tepelně upravené maso. Příznaky listeriózy u matky mohou zahrnovat horečku, zimnici, bolesti kloubů a svalů a příznaky podobné chřipce. Jde o vzácnou infekci, která však může závažným způsobem ohrozit vyvíjející se plod. Může probíhat pod obrazem sepse, zánětu plic či meningitidy a má vysokou smrtnost. Některé plody mohou odumřít již nitroděložně. Závažná infekce může být navíc provázena stavem známým jako *granulomatosis infantiseptica*, pro který je charakteristická tvorba mikroabscesů v různých orgánech plodu, např. v játrech či slezině. Infekce způsobuje v placentě abscedující zánět choriových klků a intervilózních prostor. Listeriíza se prokazuje kultivačně a léčí se antibiotiky. (Janakiraman 2008)

3.1.2.2 Chronická vilitida

Jedná se o chronický zánět stromatu choriových klků způsobený především viry nebo prvoky. Chronická vilitida je vzácná. Může být příčinou nitroděložní růstové restrikce, hydropsu plodu, předčasného porodu, potratu nebo nitroděložního odumření plodu. Některá konkrétní infekční agens mohou vyvolávat poměrně charakteristické morfologické změny v placentě, např. typické inkluze u CMV nebo HSV. Některé z těchto infekcí mohou být teratogenní, to znamená, že u plodu mohou způsobit vrozené vývojové vady. (Baergen 2011)

3.2 Chronické záněty placenty neinfekční etiologie

Příčinou těchto zánětů placenty je patologická imunitní reakce mateřského imunitního systému na antigeny plodu.

3.2.1 Chronická neinfekční vilitida (Villitis of Unknown Etiology, VUE)

Chronická neinfekční vilitida známá také jako vilitida neznámé etiologie (VUE) je nejčastější zástupce ze skupiny chronických zánětů neinfekčního původu. Podle současných informací postihuje 5 - 15 % vyšetřených placent. Nejčastěji se tento zánět vyskytuje v placentách plodů narozených v řádném termínu. Většinou se jedná o náhodný nález, o kterém je však důležité informovat lékaře indikujícího vyšetření placenty, neboť tento zánět se může opakovat i v následujících graviditách a jeho intenzita se může stupňovat. Zánět může postihnout malou nebo velkou část placenty. Jedná se o destruktivní lézi choriových klků, která ničí i fetální cévy, které jsou v klcích přítomny. To vede k nitroděložní hypoxii, která může

významně ovlivnit stav plodu. Mezi nejzávažnější komplikace patří růstová restrikce a nitroděložní odumření plodu. Těžké formy VUE mohou být spojeny i s postižením postnatálního neurologického vývoje plodu. S vyšší frekvencí se VUE vyskytuje u rodiček trpících autoimunními chorobami nebo u gravidit z darovaného oocytu. Podle dostupných informací bylo zjištěno, že zvýšená incidence VUE je i u obézních rodiček. Mikroskopicky nacházíme v choriových klcích CD8 pozitivní cytotoxické lymfocyty matky. Přežívání těchto specifických T-lymfocytů v mateřské cirkulaci i řadu let po porodu a zvýšení jejich počtu během následující gravidity je předpokládanou příčinou již zmiňovaného opakovaného výskytu. (Daumová et al. 2021)

3.2.2 Chronická chorioamnionitida

Jde o poměrně častou lézi, která se může vyskytovat samostatně i v asociaci s jinými neinfekčními záněty. V řadě případů doprovází VUE či chronickou deciduitidu. Chronická chorioamnionitida bývá častým nálezem v placentách předčasně porozených či potracených plodů. Podle současných informací můžeme pozorovat výskyt léze až u 39 % případů předčasného odtoku plodové vody před termínem porodu. Stejně jako v předchozím případě jde o reakci imunitního systému matky na antigeny plodu. Mikroskopicky nacházíme v plodových obalech a/nebo choriové plotně CD8 pozitivní cytotoxické lymfocyty matky.

(Daumová et al. 2021)

3.2.3 Chronická (lymfoplasmocytární) deciduitida

Chronická deciduitida je chronický zánět deciduy. Poměrně často doprovází VUE nebo chronickou chorioamnionitidu. Můžeme se s ní setkat i v izolované formě. Zánět se nejčastěji vyskytuje v placentách mrtvě porozených či potracených plodů, často bývá pozorován u gravidit z darovaného oocytu. Předpokládá se, že i chronická deciduitida vzniká jako reakce mateřského imunitního systému na antigeny plodu. Mikroskopicky nacházíme především v bazální deciduy lymfocyty a plasmatické buňky matky.

(Daumová et al. 2021)

3.2.4 Eosinofilní/T-buněčná vaskulitida cév choriové plotny (Eosinophilic/T-cell chorionic vasculitis, ETCV)

Jedná se o vzácný chronický zánět, který postihuje velké fetální cévy v choriové plotně. Tato léze se vyskytuje v méně než 1 % vyšetřovaných placent. S ETCV se nejčastěji setkáváme v placentách plodů porozených v řádném termínu. Na rozdíl od ostatních zánětů

řazených do této kategorie, je zánětlivý infiltrát v cévní stěně fetálního původu. Jedná se o T-lymfocyty a eosinofilní granulocyty. Zánět obvykle postihuje jen jednu cévu v choriové plotně a může být asociován s přítomností trombů v této cévě. (Daumová et al. 2021)

3.2.5 Chronická histiocytární intervilitida

Chronická histiocytární intervilitida je zánět postihující intervilózní prostory. Často bývá doprovázen zmnožením perivilózního fibrinoidu. Vyskytuje se přibližně ve 4 % placent plodů spontánně potracených v prvním trimestru a pouze u necelého 1 % placent plodů, které byly porozeny ve druhém a třetím trimestru těhotenství. Tento zánět se může opakovat až ve 100 % a proto také může být příčinou opakovaných potratů. Můžeme se s ním častěji setkat u matek, které trpí autoimunními chorobami, jako je třeba primární anti-fosfolipidový syndrom či lupus anticoagulans. (Daumová et al. 2021)

4 KORONAVIROVÁ PLACENTITIDA

Infekce virem SARS-CoV-2 představuje i nadále globální zdravotnický problém. Je známo, že tato infekce může u těhotných vyvolat závažné komplikace v podobě předčasného porodu, potratu, intrauterinní růstové restrikce nebo nitroděložního odumření plodu. Přenos infekce na plod byl sice popsán, ale jde o velmi vzácné případy. V současnosti je již známo, že výše uvedené komplikace jsou způsobeny poškozením placentární tkáně virovým zánětem. (Daumová et al. 2021)

4.1 Přenos infekce z matky na placentární tkáň / plod

Aby SARS-CoV-2 vstoupil do hostitelských buněk, je důležitá vazba virového S-proteinu na angiotensin-konvertující enzym 2 (ACE2) a jeho interakce s transmembránovou serinovou proteázou 2 (TMPRSS2). Obě tyto molekuly jsou v placentě exprimovány. Koncentrace ACE2 se během těhotenství mění. V časných stádiích gravidity je exprese enzymu patrná v oblasti deciduy, v pozdějších stádiích těhotenství je zaznamenána zejména ve vilózním trofoblastu a v endotelu cév choriových klků. Díky těmto změnám lze předpokládat, že vnímavost k infekci i projevy v placentě se můžou v průběhu gravidity lišit (Daumová et al. 2021). Podle některých studií lze expresi ACE2 v placentě zvýšit a to například hypoxií. Na základě této skutečnosti byla vyslovena teorie, že některé choroby matky, které vedou k hypoxii, mohou být predispozicí ke koronavirové infekci placenty. (Azinheira Nobrega Cruz et al. 2021)

4.2 Současné poznatky o onemocnění

Zpočátku se předpokládalo, že koronavirus SARS-CoV-2 může vést ke sníženému průtoku krve placentou, a to jak na úrovni uteroplacentárního oběhu (mateřského oběhu), tak fetoplacentárního oběhu (oběhu plodu). Uvažovalo se, že celková hypoxie matky při těžkém průběhu onemocnění COVID-19 může způsobit v placentě změny typické pro mateřskou vaskulární malperfúzi (MVM). Mateřská nebo také maternální vaskulární malperfúze (MVM) je souhrnný název pro soubor změn, které se vyskytují v placentě, pokud je narušen uteroplacentární krevní oběh. Tyto změny se mohou vyskytovat u řady chorob jako je např. hypertenze, preeklampsie nebo diabetes mellitus matky. V placentě se tyto změny projevují jak makroskopicky tak mikroskopicky. Častým makroskopickým nálezem u MVM je nízká hmotnost placenty, která neodpovídá gestačnímu stáří. Dále to může být retroplacentární hematoma, který je morfologický korelátem placentární abrupce. Mikroskopicky u MVM nacházíme infarkty choriových klků, akcelerovanou zralost choriových klků nebo např. změny spirálních arterií v bazální deciduy nebo deciduy plodových obalů.

U fetální vaskulární malperfúze (FVM) je narušen fetoplacentární krevní oběh. V případě onemocnění COVID-19 se uvažovalo o možnosti přímého působení viru na stěnu krevních cév v choriových klcích, protože endotel těchto cév obsahuje vazebná místa pro koronavirus. Vazba viru by tak mohla poškodit cévní stěnu a vést ke vzniku trombóz. Je však známo, že FVM může způsobit i řada jiných lézí jako např. nadměrné vinutí pupečníku, které vede k obstrukci fetálních cév. FVM se v placentě projevuje trombózami v cévách choriových klků a choriové plotny a přítomností fibrotizovaných avaskulárních choriových klků. Placenta rovněž mívá menší hmotnost.

Vzhledem k tomu, že do primárních studií byly zahrnuty všechny placenty od COVID-pozitivních matek bez ohledu na průkaz přítomnosti viru v placentární tkáni, je nutné k těmto informacím přistupovat obezřetně. Jedná se totiž o nescifické nálezy, které je třeba hodnotit vždy v kontextu celkových klinických údajů. (Daumová et al. 2021)

Od počátku pandemie se diskutovalo o možnosti zánětlivého poškození placenty. Díky opakovaným pozorováním byla definována SARS-CoV-2 placentitida, pro níž je charakteristická triáda morfologických změn: histiocytární intervilitida, nekrózy vilózního trofoblastu a zmnožení perivilózního fibrinoidu.

V patogenezi této jednotky hraje důležitou roli aktivace komplementu, která objasňuje i původ mikroskopických změn typických pro SARS-CoV-2 placentidu. Komplement

je součástí nespecifické humorální imunitní odpovědi. Jeho složky se kaskádovitě aktivují a tím spouštějí imunitní reakci. Finálním produktem této kaskády je komplex proteinů zvaný MAC (*Membrane Attack Complex*), který perforuje cytoplasmatické membrány některých buněk, bakterií a virů a způsobuje jejich lýzu.

U SARS-CoV-2 placentitidy vede vazba virových proteinů na povrch choriových klků k aktivaci komplementu, a tím přispívá k destrukci vilózního trofoblastu. Silný chemotaktický účinek komplementu vysvětluje přítomnost zánětlivého infiltrátu v intervilózních prostorách a lokální působení prozánětlivých cytokinů uvolňovaných z histiocyťů a neutrofilů má vliv na ukládání perivilózního fibrinoidu. (Daumová et al. 2021)

4.3 Změny v placentě u SARS-CoV-2 placentitidy

Ve vyvinutých případech má koronavirová placentitida poměrně charakteristický makroskopický vzhled. Placenta bývá menší velikosti a hmotnosti než by odpovídalo udávanému gestačnímu stáří. Na řezu jsou patrná neostře ohraničená šedožlutá ložiska, která odpovídají perivilóznímu fibrinoidu (Obr. 2 a 3).

Obrázek 2 Placenta předčasně porozeného plodu (g.h. 28+1) s makroskopicky patrnými ložisky perivilózního fibrinoidu



Zdroj: M. Daumová – Šiklův ústav patologie FN Plzeň

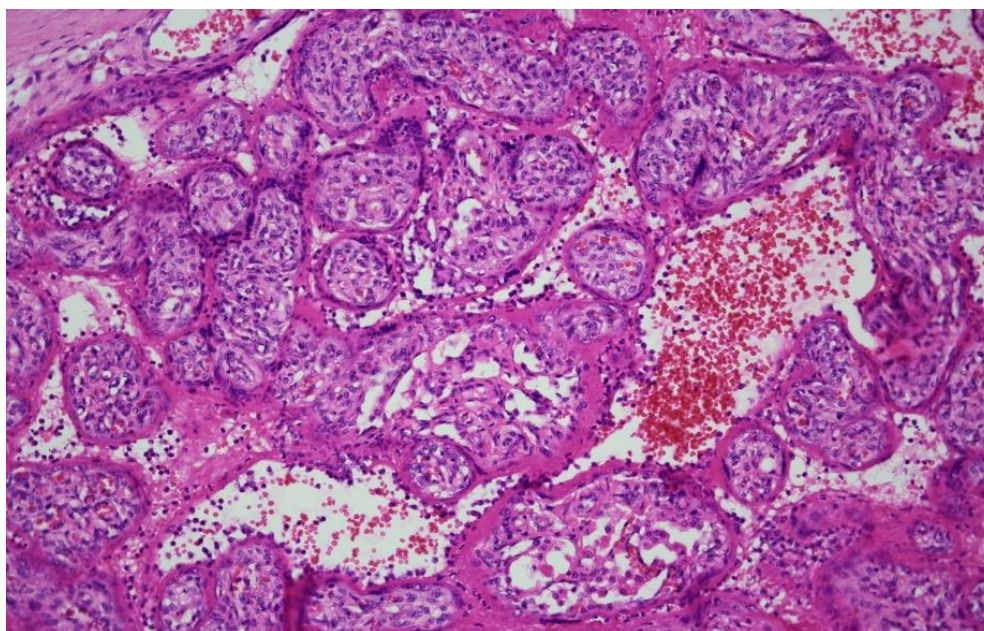
Obrázek 3 Placenta potraceného plodu (g.h. 19+2) s neostře ohraničenými šedožlutými ložisky odpovídajícími perivilóznímu fibrinoidu.



Zdroj: M. Daumová – Šiklův ústav patologie FN Plzeň

Mikroskopicky nacházíme v placentě zánětlivý infiltrát intervilózních prostor, který je tvořen histiocyty a/nebo neutrofilními granulocyty. Přítomnost histiocyty může být potvrzena imunohistochemickým barvením protilátkou CD68 nebo CD163 (Obr. 4) Na povrchu přilehlých choriových klků jsou patrné nekrózy vilózního trofoblastu. Léze bývá často doprovázena množením perivilózního fibrinoidu, který obliteruje intervilózní prostory. (Daumová et al. 2022)

Obrázek 4 Histiocytární intervilositida s masivními depozity perivilózního fibrinoidu (HE, 100x).



Zdroj: M. Daumová – Šiklův ústav patologie FN Plzeň

I přes to, že histologický obraz SARS-CoV-2 placentitidy je poměrně charakteristický, je třeba diagnózu potvrdit dalšími metodami a to zejména z důvodu vysoké podobnosti s jinými záněty infekční i neinfekční etiologie.

Do diferenciální diagnózy vstupují především následující jednotky: chronická histiocytární intervilositida, chronická neinfekční vilitida (VUE), masivní depozita perivilózního fibrinoidu a dále některé infekční záněty.

Chronická histiocytární intervilositida i chronická neinfekční vilitida patří mezi záněty, které vznikají na imunopatologickém podkladě a mohou se opakovat v následujících graviditách. Podrobnější informace o těchto dvou jednotkách byly uvedeny výše. Masivní depozita perivilózního fibrinoidu se rovněž mohou vyskytovat opakovaně a mohou vést ke snížení průtoku krve placentou a k hypoxii plodu. Tento stav se častěji vyskytuje u matek,

kteří mají trombofilní mutace. Na rozdíl od SARS-CoV-2 placentitidy není přítomen v intervilózních výrazný zánětlivý infiltrát. (Katzman 2004)

Některé infekce rovněž mohou napodobovat SARS-CoV-2 placentitidu, např. záněty způsobené *E. coli* nebo *Campylobacterem*. V zánětlivém infiltrátu ale převažují neutrofilní granulocyty. (Heerema-McKenney 2017; Daumová et al. 2022)

K potvrzení diagnózy SARS-CoV-2 placentitidy můžeme využít imunohistochemické a molekulárně genetické vyšetření (průkaz nukleové kyseliny viru metodou PCR).

5 IMUNOHISTOCHEMIE

Imunohistochemie je jedna ze speciálních a moderních metod, pomocí které lze detekovat tkáňové antigeny. V případě proběhlé (pozitivní) reakce je tato vazba znázorněna barevným produktem. V patologii se tato metoda využívá k diagnostickým účelům.

5.1.1 Reakce antigen-protilátka

Antigen je látka bílkovinné povahy vzniklá ve vlastním těle nebo pocházející z vnějšího prostředí. Na každém antigenu je specifická oblast, kterou rozeznávají imunitní receptory. Tato oblast se nazývá epitop a představuje vazebné místo pro protilátku.

Protilátky využívané při imunohistochemické reakci mohou být monoklonální a nebo polyklonální. Monoklonální protilátky jsou produkovány tzv. hybridomy. Polyklonální protilátky vznikají po imunizaci v organismu člověka nebo zvířete. Tyto protilátky bývají nějakým způsobem označené, aby došlo k vizualizaci místa interakce a průkazu antigenů. Využívá se buď přímého značení protilátky (přímá metoda) anebo se neznačená protilátka zviditelní pomocí jiné značené protilátky (nepřímá metoda).

Pomocí imunohistochemie lze například rozlišit určité typy buněk ve tkáni nebo prokázat přítomnost některých mikroorganismů apod. (Jirkovská 2017)

5.2 Odběr materiálu na histologické vyšetření

Odběr biotického materiálu (vzorku z živého organismu) se musí provést co nejrychleji a co nejšetrněji. Metody odběru biotických vzorků se mohou lišit, hlavní je aby nedošlo k poškození tkáně a jejímu znehodnocení autolýzou. Proto je nutné zasílat tkáně ve fixačním roztoku (nejčastěji 4% roztoku formaldehydu). Na histologické vyšetření placenty je zasílán celý orgán, včetně plodových obalů a části pupečníku. (Čížková 2018)

5.3 Zpracování a makroskopický popis placenty

Před odběrem vzorků z placenty je nejprve nutné zhodnotit a popsat její celkový stav. Hodnotí se rozměry placentárního disku, délka a vinutí pupečnicku a místo jeho inserce, dále stav choriové plotny a bazální plotny a následně ložiskové změny v placentární tkáni. Důležité je placetu i zvážit. To se však provádí až po odstranění pupečnicku a plodových obalů, abychom zjistili hmotnost samotného placentárního disku a mohli ji srovnat s hodnotami pro dané gestační stáří. Makroskopický popis není radno podceňovat, protože některé patologické stavy placenty lze diagnostikovat pouze makroskopicky.

Podle současných doporučení by se z placenty měly odebírat minimálně tři řezy z placentárního disku, dva řezy z pupečnicku a jeden řez ze srolovaných plodových obalů a dále řezy z makroskopicky viditelných ložiskových změn. V praxi je však často zvykem odebírat z placenty pro přehlednost i více vzorků. Tyto vzorky jsou vloženy do biokazet a následně jsou uloženy do 4% roztoku formaldehydu (10% formol), aby došlo k jejich řádné fixaci.

5.4 Výroba histologických preparátů

Fixované vzorky tkáně je nutné zalít vhodným médiem, aby se mohly krájet pomocí mikrotomu na tenké řezy. K zalévání se používá nejčastěji parafín. Jde o látku, která je nerozpustná ve vodě. Před zalitím tkáně parafínem je však nutné ze vzorku nejprve odstranit fixační tekutinu, odvodnit ho a prosytit intermédiem.

Po zchlazení parafínu je připraven parafínový tkáňový blok, který se krájí pomocí sáňkového či rotačního mikrotomu na tenké řezy o tloušťce přibližně 5 μm . Tyto řezy se přenesou na hladinu teplé destilované vody, kde dojde k jejich napnutí a přenesení na podložní sklo. Před barvením preparátu je nutné tkáňový řez odparafínovat v lázních xylenu. Potom probíhá jeho barvení dle specifického postupu pro jednotlivá barviva. Nejčastěji používaným barvením je barvení hematoxylinem a eosinem. Po obarvení tkáňového řezu je trvalý preparát zamontován do montovacího média a přiloží se na něj krycí sklíčko. Takovýto preparát je pak možné prohlížet pod světelným mikroskopem.

5.5 Zpracování materiálu pro imunohistochemické vyšetření a postup barvení imunohistochemických preparátů

Imunohistochemické preparáty se zhotovují z parafinových tkáňových bloků. Pro úspěšnou imunohistochemickou reakci musí být epitop viditelný ve tkáni. Fixace 10% formolem má za následek zesíťování proteinů, čímž se stává vazebné místo protilátky nepřístupné. K obnově vazebných míst se používají metody, které optimalizují prezentaci antigenu. Tento krok provádíme na odparafinovaných a rehydratovaných řezech. Odhalení antigenů můžeme provést pomocí proteáz (trypsin, pepsin, pronáza) nebo tepla.

Pokud využíváme pro vizualizaci reakce enzymové značky, je důležité blokovat endogenní aktivitu enzymu, jelikož se tyto enzymy vyskytují také přirozeně i ve zpracovávané tkáni, mohou do značné míry znehodnotit výsledek vyšetření ve smyslu falešně pozitivní reakce. (Čížková 2018; Beranová a Tonar 2002)

Při detekci může dojít i k nežádoucímu přibarvení pozadí, které je způsobeno zejména nespecifickou vazbou protilátek. Lze tomu částečně předejít vysycením tkáně bílkoviny (nespecifickým sérem nebo např. mlékem). Tkáň se tak saturuje neškodnými proteiny a nespecifické přibarvení pozadí je potom menší.

Jako další krok následuje inkubace v primární protilátce. Poté je na řadě inkubace se sekundární protilátkou. Následně je potřeba chromogen zviditelnit speciálním činidlem. Preparát necháme zkoncentrovat v 5 % síranu měďnatém a jádra dobarvíme Gillovým hematoxylinem. (Beranová a Tonar 2002)

5.6 Metody průkazu antigenu ve tkáni

Antigen ve tkáni můžeme stanovit různými metodami.

5.6.1 Přímá metoda

V případě přímé metody nese primární protilátka navázanou značku (enzymatickou, fluorescenční), která nasedá na předem určený antigen ve tkáni. Tato metoda není dostatečně citlivá a lze ji použít pouze v případě, že je v tkáni přítomen antigen v dostatečně vysokých koncentracích. (Čížková 2018)

5.6.2 Nepřímá dvojstupňová metoda

U nepřímé dvojstupňové metody se neoznačené primární protilátka váže na antigeny ve tkáni. Ve druhém kroku se konjugovaná sekundární protilátka váže na Fc fragment primární protilátky. Přestože se jedná o postup složitější než u přímé metody, jde o metodu citlivější, jelikož se na jednu primární protilátku váže více sekundárních protilátek, z tohoto důvodu je signál zesílen. Sekundární protilátky mohou být také navázány na enzymaticky značené polymery. (Čížková 2018)

5.6.3 Nepřímá trojstupňová metoda

Nepřímé trojstupňové metody se využívá k zesílení signálu v případě, že je množství antigenu ve tkáni nízké. V první fázi reaguje primární protilátka s antigenem prokazovaným ve tkáni. Ve druhé fázi je přidána neznačená sekundární protilátka (která reaguje s protilátkami používanými v první a třetí fázi reakce). Tato sekundární protilátka představuje protilátku spojovací. Tuto protilátku je nutné do reakce přidávat v nadbytku, aby nedošlo k vysycení obou ramen její IgG molekuly, což by poskytovalo falešně negativní výsledek. Ve třetí fázi se přidává značený komplex, např. peroxidáza-antiperoxidázový komplex. (Tonar 2002)

Jinou nepřímou trojstupňovou metodou je technika avidin-biotinového komplexu (tzv. ABC metoda). Tato metoda využívá pevné neimunologické vazby glykoproteinu avidinu s vitamínem H (biotinem). Avidin má schopnost vázat čtyři molekuly biotinu. Některá vazebná místa avidinu jsou volná a některá obsazena komplexem biotin-peroxidáza. Volná místa jsou připravena pro vazbu s biotinylovanou sekundární protilátkou (tzv. můstkem). Po vazbě sekundární protilátky s avidin biotinovým komplexem dochází k barevné reakci v místě primární specifické reakce. Metoda ABC je v současnosti nejcitlivější a také nejrozšířenější metodou užívanou v imunohistochemii. (Čížková 2018)

5.7 Protilátky využívané při vyšetření SARS-CoV-2 placentitidy.

K průkazu viru SARS-CoV-2 ve tkáni je využívána protilátka SARS2-BioSB (klon BSB-134, BioSB). Tato protilátka se váže na nukleokapsidový protein viru SARS-CoV-2, který lze detekovat ve vilózním trofoblastu. K potvrzení přítomnosti histiocytů v intervilózních prostorách můžeme využít protilátky proti CD68 (klon KP1, Dako), popř. CD163 (klon MRQ-26, Ventana)

PRAKTICKÁ ČÁST

6 CÍL VÝZKUMU

Cílem bakalářské práce je shrnutí současných poznatků o infekci SARS-CoV-2 v placentě, se zvláštním přihlédnutím k morfologii nově definované SARS-CoV-2 placentitidy.

Práce je doplněna o analýzu klinických dat získaných z dokumentace a nálezy jsou porovnány s výsledky odborných publikací na toto téma. Předpokládaným výstupem do praxe je sumarizace klinicko-patologických nálezů při koronavirové infekci placenty a popis jejich významu pro matku a plod.

7 VÝZKUMNÉ OTÁZKY

- 1.** Kolik bylo vyšetřeno placent v období od 03/2020 do 03/2022? V kolika případech byla indikací k vyšetření aktivní koronavirová infekce matky?
- 2.** V kolika placentách byla prokázána koronavirová placentida (SARS-CoV-2 placentitida)?
- 3.** Jaké varianty SARS-CoV-2 byly v postižených placentách prokázány?
- 4.** Jaký byl průběh onemocnění u matek s prokázanou koronavirovou placentitidou?
- 5.** Vyskytovaly se u matek s prokázanou koronavirovou placentitidou nějaké komorbidity?
- 6.** Jaké bylo gestační stáří plodů, v jejichž placentách byla prokázána koronavirová placentitida?
- 7.** Vyskytovaly se u plodů, v jejichž placentách byla prokázána koronavirová placentitida nějaké komplikace?
- 8.** Byly u plodů prokázány vývojové vady?
- 9.** Byl v některém případě zaznamenán transplacentární přenos koronavirové infekce z matky na plod?
- 10.** Jak dlouhou dobu od infekce matky byla prokázána přítomnost viru v placentární tkáni?

8 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU

Ze souboru všech placent vyšetřených na Šiklově ústavu patologie FN Plzeň v období koronavirové pandemie (3/2020 až 3/2022) byly vybrány placenty, v nichž byla imunohistochemickým a molekulárně genetickým vyšetřením prokázána přítomnost viru SARS-CoV-2. Výsledky histologického vyšetření byly porovnány s klinickými údaji získanými z nemocničního informačního systému WinMedicalc.

9 METODIKA PRÁCE

9.1 Výběr sledovaného souboru

Z nemocničního informačního systému WinMedicalc byl vygenerován soubor všech placent, které byly ve vybraném období (03/2020 až 03/2022) vyšetřeny na Šiklově ústavu patologie FN Plzeň. Podle čísel bioptického vyšetření byl v systému vyhledán nejprve histologický popis placenty, a pokud splňoval zadaná kritéria (histiocytární /neutrofilní intervilitida, depozita perivilózního fibrinoidu, nekróza trofoblastu), byly následně vyhledány další informace o porodu, stavu matky a plodu. Předmětem zájmu byly tyto klinické údaje: gestační stáří plodu, hmotnost plodu, stav plodu, chronické choroby matky a choroby vzniklé během gravidity včetně onemocnění COVID-19. V případě, že se jednalo o nitroděložně odumřelé plody, byl vyhledán i pitevní protokol.

9.2 Interpretace získaných dat a jejich hodnocení

Na základě získaných dat byly ze souboru vybrány placenty s potvrzenou infekcí SARS-CoV-2. Patologické nálezy v těchto placentách byly porovnány s klinickými informacemi a výsledky posloužily k zodpovězení výzkumných otázek.

9.3 Výběr vzorků pro imunohistochemické vyšetření

Přesto, že je histologický obraz koronavirové placentitidy poměrně charakteristický, existují jednotky, které mohou tento zánět napodobovat. Jde zejména o chronickou histiocytární intervilitidu neinfekčního původu, která vzniká na imunopatologickém podkladě jako reakce matky proti plodu. Jedná se o destruktivní zánět placenty, který může být příčinou závažných komplikací včetně nitroděložního odumření plodu. Jeho riziko spočívá i v tom, že se s vysokou frekvencí opakuje i v dalších graviditách. Koronavirová placentitida může rovněž způsobit závažné komplikace včetně smrti plodu, v dalších graviditách se však standardně neopakuje. Proto je důležité tyto dva záněty od sebe odlišit. K tomuto odlišení může pomoci imunohistochemické a molekulárně genetické vyšetření. Naším úkolem bylo zjistit, zda imunohistochemické vyšetření je k odlišení těchto dvou jednotek dostačující nebo zda je nutné ve všech suspektních případech využít i metod molekulární genetiky. Proto bylo

z našeho archivu vybráno pět případů chronické histiocytární intervilitidy. Podle bioptických čísel byly vyhledány parafínové tkáňové bloky od těchto případů, které byly následně obarveny protilátkou SARS2-BioSB. Materiál byl následně ještě odeslán na genetické vyšetření, které mělo za úkol vyloučit přítomnost viru SARS-CoV-2 ve tkáni.

9.4 Příprava preparátů k imunohistochemickému vyšetření a jejich hodnocení

Vybrané tkáňové bloky byly pomocí sáňkového mikrotomu nakrájeny na tenké řezy. Řezy byly přeneseny na podložní sklo, odparafínovány a následně obarveny v barvicím automatu BenchMark ULTRA VENTANA od firmy Roche protilátkou SARS2-BioSB proti nukleokapsidovému proteinu viru SARS-CoV-2 (monoklonální myší protilátka, klon BSB-134, ředění 1:50) od firmy BioSB. Barvicí automat je propojen s počítačem, který ovládá všechny programy prováděné tímto přístrojem. Pracovní protokol používaný pro barvení touto protilátkou je součástí Příloh.

Imunohistochemické preparáty byly prohlédnuty ve světelném mikroskopu. Výsledky vyšetření u vybraných případů chronické histiocytární intervilitidy byly porovnány s případy potvrzené koronavirové placentitidy. Aby byla ve vybraných vzorcích jednoznačně vyloučena přítomnost SARS-CoV-2, byly tkáňové bloky odeslány ještě na genetické vyšetření do Bioptické laboratoře s.r.o.

10 VÝSLEDKY

V zadaném období bylo vyšetřeno celkem 830 placent. Pouze ve 47 případech byla indikací k vyšetření placenty aktivní koronavirová infekce matky.

Koronavirová placentitida byla prokázána ve 34 placentách (4,09 %) (Tab.1, Graf 1), přičemž pouze v 16 případech šlo o placenty matek s aktivní koronavirovou infekcí (případ č. 2, 3, 6 – 11, 15, 16, 20, 22, 26, 33 a 34) potvrzenou pozitivním PCR testem. V ostatních případech byly placenty odeslány k vyšetření z jiných důvodů (prematurita, nízká porodní hmotnost plodu, komorbidity matky, hrozící hypoxie plodu, smrt plodu).

Tabulka 1 Potvrzené případy SARS-CoV-2 placentitidy.

| | Gestační stáří | Placenta (hmotnost, patologické nálezy) | Plod (hmotnost, patologické nálezy) | Matka (patologické stavy) | Průkaz COVID-19 u matky | Průběh onemocnění u matky | Varianta viru v placentě |
|-----|----------------|---|--------------------------------------|---|-------------------------|-------------------------------------|--------------------------|
| č.1 | g.h. 19+2 | 97 g | 238 g; mrtvý plod | trombocytopenie | 14 dní před potratem | asymptomatický | β |
| č.2 | g.h. 21+0 | 107 g | 270 g; mrtvý plod | trombocytopenie | v době potratu | asymptomatický | α |
| č.3 | g.h. 21+0 | 120 g; subchoriální hematom | 372 g; mrtvý plod | trombocytopenie | v době potratu | asymptomatický | δ |
| č.4 | g.h. 26+4 | 207 g; MVM | 720 g; IUGR, hrozící hypoxie dle CTG | gestační hepatopatie, elevace JT, trombocytopenie | 14 dní před porodem | únava, zvýšená teplota, rýma, kašel | δ |
| č.5 | g.h. 28+0 | 238 g; chronická deciduitida | 1130 g; hrozící hypoxie dle CTG | x | 2 dny před porodem | rýma, kašel | β |
| č.6 | g.h. 28+1 | 285 g; akutní chorioamnionitida | 1170 g; hrozící hypoxie dle CTG | mutace <i>MTHFRA</i> , trombocytopenie | 6 dní před porodem | zvýšená teplota, rýma | δ |
| č.7 | g.h. 28+1 | 234 g | 1120 g; hrozící hypoxie dle CTG | x | v době porodu | asymptomatický | δ |

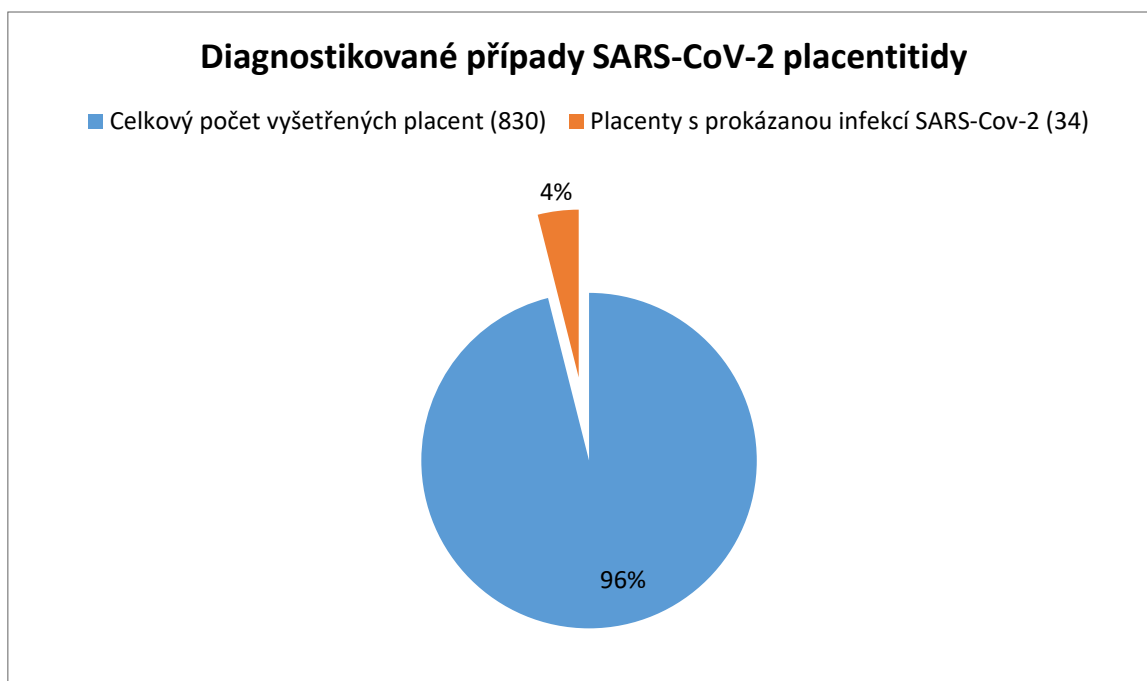
| | | | | | | | |
|------|----------------------------------|---|--|--|---------------------------|--------------------------------------|---|
| č.8 | g.h. 30+1 | 287 g | 1200 g; IUGR, hrozící hypoxie dle CTG | GDM, elevace JT, trombocytopenie | v době porodu | asymptoma- tický | α |
| č.9 | g.h. 30+6 | 383 g | 1680 g; mrtvý plod | x | 8 dní před poro- dem | kašel | α |
| č.10 | g.h. 32+0 | 277 g | 1450 g; hro- zící hypoxie dle CTG | x | 7 dní před poro- dem | zvýšená tep- lota, rýma, kašel | α |
| č.11 | g.h. 32+2 | 362 g; MVM | 1700 g; hro- zící hypoxie dle CTG | GDM | 10 dní před po- rodem | rýma, kašel | δ |
| č.12 | g.h. 31+5 (dvojčata bi-bi) | 260 g; MVM a 184 g; MVM, FVM | 1550g a 1150 g; IUGR obou plodů | x | 21 dní před po- rodem | rýma, bolesti svalů a kloubů | α |
| č.13 | g.h. 32+6 | 320 g; MVM a FVM | 1540 g; IUGR, hrozící hypoxie dle CTG | DM1, hypotyreóza, gestační HT | 44 dní před po- rodem | rýma, kašel | α |
| č.14 | g.h. 33+0 | 282 g; MVM, akutní chori- oamnionitida | 860 g; IUGR | elevace JT, trombo- cytopenie | 31 dní | kašel | α |
| č.15 | g.h. 33+2 | 320 g | 1650 g; mrtvý plod | těžké polytrauma v anamnéze, trombo- cytopenie | v době porodu | asymptoma- tický | δ |
| č.16 | g.h. 33+6 | 377 g | 1900g; hrozící hypoxie dle CTG | trombocytopenie | 4 dny před poro- dem | asymptoma- tický | δ |
| č.17 | g.h. 34+3 | 314 g | 1890 g; hro- zící hypoxie dle CTG | elevace JT, trombo- cytopenie | ? | asymptoma- tický | δ |
| č.18 | g.h. 35+1 (dvojčata mo-bi) | 422 g; MVM, FVM | 1450 g a 2180 g; IUGR plodu A | x | 114 dní před po- rodem | asymptoma- tický | o |

| | | | | | | | |
|------|-----------|---|--|---|-----------------------------|--|---|
| č.19 | g.h. 35+1 | 368 g | 2640 g; pu- pečník kolem krku, mrtvý plod | x | ? | asymptoma- tický | δ |
| č.20 | g.h. 35+6 | 400 g | 2590 g; mrtvý plod | trombocytopenie | v době porodu | pneumonie vyžadující hospitalizaci | δ |
| č.21 | g.h. 37+0 | 477 g; MVM, akutní chori- oamnionitida | 2430 g; IUGR, hrozící hypoxie dle CTG | asthma bronchiale | 77 dní před po- rodem | kašel | α |
| č.22 | g.h. 37+5 | 425 g | 2640 g; pu- pečník kolem krku, hrozící hypoxie dle CTG | trombocytopenie | 3 dny | asymptoma- tický | δ |
| č.23 | g.h. 38+1 | 460 g; MVM | 3170 g | x | 41 dní před po- rodem | kašel, bolesti svalů a kloubů | δ |
| č.24 | g.h. 38+2 | 364 g | 2420 g; IUGR | celiakie, elevace JT, trombocyto- penie | 18 dní před po- rodem | kašel, rýma | δ |
| č.25 | g.h. 38+4 | 342 g; opož- děná matu- race chorio- vých klků | 2630 g | x | 54 dní před po- rodem | zvýšená tep- lota, rýma, kašel | α |
| č.26 | g.h. 38+6 | 605 g; akutní chorioamnio- nitida | 4230 g; hro- zící hypoxie dle CTG | GDM, obezita | 7 dní před poro- dem | kašel | δ |
| č.27 | g.h. 39+1 | 426 g | 2830 g | x | 53 dní před po- rodem | rýma, kašel | α |
| č.28 | g.h. 39+1 | 616 g | 4200 g | x | 65 dní před po- rodem | zvýšená tep- lota, rýma, kašel | α |
| č.29 | g.h. 39+4 | 490 g; VUE s obliterativní vaskulopatií | 3160 g | mutace <i>MTHFRA</i> , mutace genu pro protrombin | pozitivní ve 2.trimestru | kašel | α |

| | | | | | | | |
|------|-----------|---|---------------------------------|---|---------------------|-------------------------------|---|
| č.30 | g.h. 39+6 | 387 g; MVM | 3450 g | trombocytopenie | 25 dní před porodem | rýma, kašel | δ |
| č.31 | g.h. 40+0 | 630 g; VUE s obliterativní vaskulopatií | 3300 g | x | 67 dní před porodem | rýma | α |
| č.32 | g.h. 40+1 | 480 g; FVM, akutní chorioamnionitida | 3300 g; hrozící hypoxie dle CTG | karcinom prsu v anamnéze léčený chemo- a radioterapií | ? | asymptomatický | o |
| č.33 | g.h. 40+2 | 405 g; placenta adherens | 2860 g | trombocytopenie | 9 dní před porodem | rýma, bolesti svalů | o |
| č.34 | g.h. 41+1 | 420 g; MVM, akutní chorioamnionitida | 3370 g | trombocytopenie | 4 dny před porodem | kašel, bolesti svalů a kloubů | α |

Zdroj:vlastní

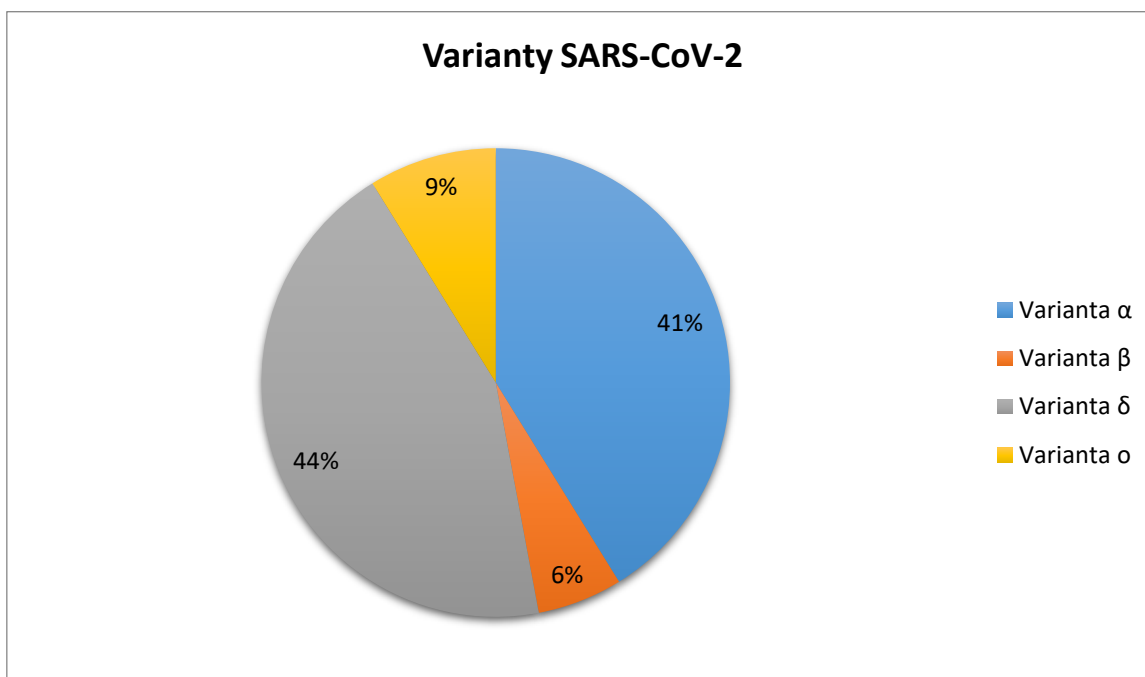
Graf 1 Poměr mezi počtem všech vyšetřených placent a potvrzených případech SARS-CoV-2 placentitidy



Zdroj:vlastní

V placentách byla 14x prokázána varianta viru alfa, 2x varianta beta, 15x varianta delta, 3x varianta omikron (Graf 2).

Graf 2 Varianty SARS-CoV-2 prokázané v placentě



Zdroj: vlastní

Průběh onemocnění COVID-19 byl u matek většinou mírný nebo dokonce asymptomatický.

V 21 případech se jednalo o projevy v podobě rýmy, kašle, zvýšené teploty či bolesti svalů a kloubů (případ č. 4 – 6, 9 – 14, 21, 23 – 31, 33 a 34). Pouze v jednom případě šlo o vážný stav (koronavirová pneumonie), který vyžadoval hospitalizaci (případ č. 20). Ve 12 případech probíhala nákaza asymptomaticky. Ve třech případech (případ č. 17, 19, 32) byla dokonce infekce matky prokázána zpětně až na základě vyšetření placenty.

U několika matek se vyskytovaly komorbidity. Ve dvou případech byl u matek diagnostikován gestační diabetes (případ č. 8 a 11), v jednom případě matka trpěla diabetem prvního typu, hypotyreózou a gestační hypertenzí (případ č. 13), u jedné matky byla prokázána gestační hepatopatie (případ č. 4), jedna matka trpěla astmatem (případ č. 21), jedna matka měla celiakii (případ č. 24), ve dvou případech byly matky nositelkami trombofilní mutace (případ č. 6 a 29), v jednom případě byla matka po léčbě karcinomu prsu (případ č. 32) a v jednom případě byla matka po těžkém polytraumatu v minulosti (případ č. 15). Ostatní matky byly zdravé. Nezávisle na primárním onemocnění byla u 16 matek prokázána

trombocytopenie a/nebo elevace jaterních transamináz (případ č. 1 – 4, 6, 8, 14 – 17, 20, 22, 24, 30, 33 a 34). Tyto nálezy lze však považovat spíše za symptom koronavirové infekce.

SARS-CoV-2 placentitida byla prokázána v placentách donošených i nedonošených plodů. Ve 14 případech se jednalo o donošené plody, ve 20 případech šlo o plody nedonošené. Gestační stáří se pohybovalo od 19+2 do 41+1.

V 7 případech byla koronavirová placentitida příčinou nitroděložního odumření plodu (případ č. 1 – 3, 9, 15, 19 a 20), jednalo se o nedonošené plody (od 19. gestačního týdne do 35. gestačního týdne). V placentách všech těchto plodů byl prokázán těžký zánět, který vedl k destrukci 40 i více procent objemu placentární tkáně (Tab. 2, Graf 3).

Tabulka 2 Nitroděložně odumřelé plody

| | Gestační stáří | Pozitivní průkaz SARS-CoV-2 u matky |
|------|----------------|-------------------------------------|
| č.1 | g.h. 19+2 | 14 dní před potratem |
| č.2 | g.h. 21+0 | v době potratu |
| č.3 | g.h. 21+0 | v době potratu |
| č.9 | g.h. 30+6 | 8 dní před porodem |
| č.15 | g.h. 33+2 | v době porodu |
| č.19 | g.h. 35+1 | ? |
| č.20 | g.h. 35+6 | v době porodu |

Zdroj: vlastní

Graf 3 Poměr mezi živě narozenými a nitroděložně odumřelými plody s prokázaným koronavirovým zánětem v placentě



Zdroj: vlastní

V 9 případech (z toho jednou u obou dvojčat) byla prokázána růstová restrikce plodu (případ č. 4, 5, 8, 12 – 14, 18, 21 a 24). Ve 14 případech byl přítomen patologický kardiografický záznam svědčící pro hrozící hypoxii plodu (případ č. 4 – 8, 10, 11, 13, 16, 17, 21, 22, 26 a 32). V jednom případě (případ č. 22) se na hypoxii mohlo podílet i obtočení pupečníku kolem krku plodu.

U donošených plodů se nevyskytovaly závažné poporodní komplikace, které by vyžadovaly intenzivní péči. Koronavirový zánět placenty byl mírný a postihoval pouze malou část placentární tkáně. Nedonošení novorozenci měli zhoršenou poporodní adaptaci, ke které přispěla nejen intrauterinní hypoxie způsobená destrukcí placenty virovým zánětem, ale i vlastní prematurita, která bývá spojená např. se syndromem respirační tísně a dalšími chorobnými stavy asociovanými s nezralostí orgánů.

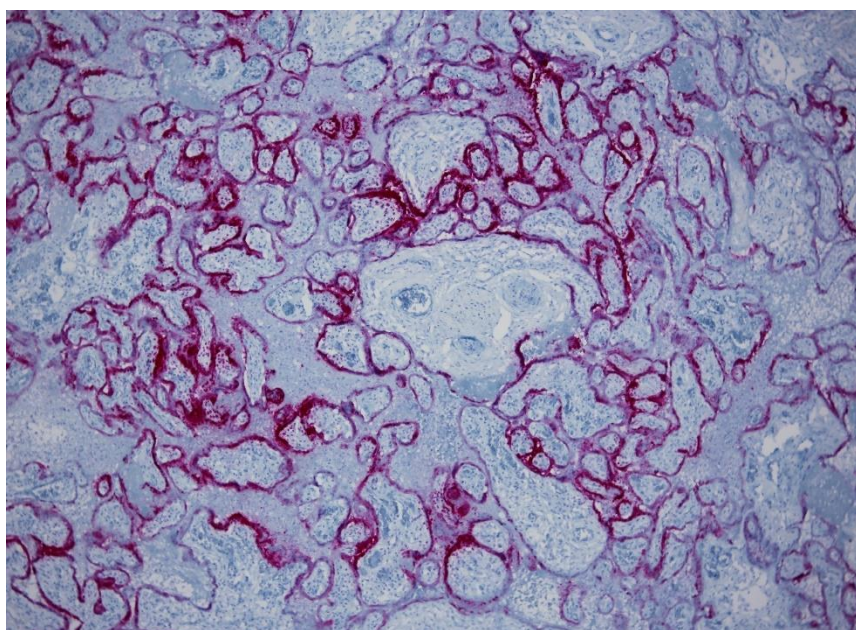
U žádného z plodů nebyly klinicky ani pitvou prokázány vrozené vývojové vady. U pitvaných plodů byly přítomny pouze změny svědčící pro intrauterinní hypoxii (aspirace součástí plodové vody do alveolů plic, petechie pod pleurou a pod pouzdem thymu, pseudofolikulární transformace kůry nadledvin).

U žádného plodu (včetně potracených / mrtvě rozených) nebyla prokázána koronavirová infekce.

Koronavirus byl v placentě prokázán v širokém rozmezí, které se pohybovalo od 1 dne až do 114 dní od potvrzené infekce matky. Zejména v případě nitroděložně odumřelých plodů bylo zjištěno, že koronavirová infekce může v krátkém časovém horizontu destruovat podstatnou část placenty. Na základě našeho pozorování lze dále předpokládat, že koronavirus může v placentě perzistovat poměrně dlouhou dobu od nákazy. Minimálně v jednom případě se však domníváme, že u matky došlo k asymptomatické reinfekci. Jednalo se o případ č.18. Matka byla pozitivně testována v listopadu 2021 a porodila v březnu 2022. V placentě byla prokázána varianta koronaviru omikron, která však podle dostupných statistických údajů nebyla v listopadu roku 2021 dominantní variantou, v té době převládala v populaci varianta delta. Variantu viru, která byla příčinou infekce matky v listopadu 2021, se bohužel nepodařilo zjistit, protože PCR test byl proveden mimo FN Plzeň.

Součástí praktické části bakalářské práce bylo ověření účinnosti imunohistochemické protilátky SARS2-BioSB. Protilátka SARS2-BioSB reaguje s nukleokapsidovým proteinem viru SARS-CoV-2. Pokud je virus ve tkáni přítomen, dochází k barevné (červené) reakci ve vilózním trofoblastu, na nějž se koronavirus váže (Obr. 5). Jako vnější kontrola imunohistochemického vyšetření slouží malá část placenty s potvrzenou koronavirovou placentitidou, která je umístěna na stejném sklíčku v rohu preparátu.

Obrázek 5 Imunohistochemický průkaz nukleokapsidového proteinu viru SARS-CoV-2 v cytoplasmě vilózního trofoblastu (SARS2 – BioSB, 100x).



Zdroj: M. Daumová – Šiklův ústav patologie FN Plzeň

Ve světelném mikroskopu bylo prohlédnuto všech 34 případů koronavirové placentitidy a následně i pět případů chronické histiocytární intervillozity neinfekčního původu. Všechny případy chronické histiocytární intervillozity diagnostikované v minulosti byly negativní v průkazu koronaviru protilátkou SARS2-BioSB. Naopak ve všech 34 revidovaných případech koronavirové placentitidy byla reakce s protilátkou pozitivní. K jednoznačnému vyloučení SARS-CoV-2 ve vzorcích z chronické histiocytární intervillozity byly parafrínové tkáňové bloky odeslány ještě na genetické vyšetření, které metodou PCR vyloučilo přítomnost koronaviru ve tkáni. Z tohoto pozorování vyplývá, že k rozlišení těchto dvou jednotek, které jsou morfologicky velmi podobné, stačí imunohistochemické vyšetření, které nemusí být doplněno metodou PCR. Ačkoli bylo testovaných vzorků jen malé množství, nevyskytla se v žádném z nich zkřížená reakce s protilátkou, která by vzbuzovala podezření na koronavirovou infekci placenty. Je však nutné podotknout, že imunohistochemická reakce sama o sobě není např. schopná prokázat variantu koronaviru, což může být např. pro výzkum této infekce užitečné.

DISKUZE

Při vývoji plodu hraje placenta zcela zásadní roli. Tento dočasný orgán plní řadu důležitých funkcí a jakékoli jeho výraznější poškození může zásadně ovlivnit i průběh těhotenství.

Záněty představují jedny z nejčastějších patologických stavů placenty. Záněty můžeme rozdělit z několika hledisek. Podle složení zánětlivého infiltrátu dělíme záněty na akutní a chronické. U akutních zánětů převládají v zánětlivém infiltrátu neutrofilní granulocyty, u chronických zánětů jsou dominantní komponentou mononukleáry (histiocyty, lymfocyty, plasmatické buňky). Podle původce dělíme záněty placenty na záněty infekční etiologie a na záněty neinfekčního původu. Původci infekčních zánětů jsou velmi heterogenní, může se jednat o protozoa, bakterie, viry i plísňe. Nejčastější cesta přenosu infekcí je cesta ascendentní – z pochvy a hrdla děložního. Místem prvního kontaktu jsou plodové obaly a výsledkem je akutní zánět plodových obalů a choriové plotny zvaný chorioamnionitida. Tento zánět se později může šířit i na další části placenty a nezdá se, že by mohl postihnout i cévy plodu (cévy v choriové plotně a žílu a tepny v pupečníku). Infikovanou plodovou vodu může plod aspirovat a může dojít k rozvoji adnatní pneumonie. Druhou možností přenosu je šíření infekce z mateřského krevního oběhu do placenty. Jde o tzv. transplacentární/hematogenní přenos. I tímto způsobem může dojít k přenosu infekce na plod. Z mateřského krevního oběhu mohou do placenty pronikat nejrůznější mikroorganismy, nejčastěji však infekce ze skupiny známé pod zkratkou TORCH (*Toxoplasma gondii*, Ostatní – např. *Parvovirus B19*, *Listeria monocytogenes*, *virus hepatitidy B* a další, *Rubeola*, *Cytomegalovirus* a *Herpes simplex virus*). Tyto záněty pronikají do placenty cestou intervilózních prostor, v nichž koluje krev matky. Místem prvního kontaktu jsou choriové klky a proto tyto záněty zpravidla způsobují vilitidu (zánět choriových klků) a/nebo intervilitidu (zánět intervilózních prostor). Často se jedná o velmi těžké záněty, které mohou vést k intrauterinní růstové restrikci plodu a případně i jeho nitroděložnímu odumření. Některé z těchto infekcí mohou být příčinou vrozených vývojových vad plodu. Neinfekční záněty placenty se sice nevyskytují s takovou frekvencí jako záněty infekční, jsou však neméně důležité. Principem těchto zánětů je patologická reakce matky na antigeny plodu/placenty. Po kontaktu s fetálními antigeny začne mateřský imunitní systém na tyto antigeny reagovat ve snaze o jejich eliminaci, výsledkem je destruktivní zánět, který může postihnout jakoukoli část placenty (choriové klky, choriovou plotnu, intervilózní prostory, bazální plotnu i plodové obaly). Nejčastěji se jedná o chronickou vilitidu (též známou jako vilitida neznámé etiologie, VUE), což je zánět choriových

klků. Ve stromatu choriových klků můžeme identifikovat cytotoxické lymfocyty matky, které ničí choriové klky včetně fetálních cév. Tento zánět může způsobit těžké poškození placentárního parenchymu a být příčinou tzv. fetální vaskulární malperfúze. Plody mohou trpět intrauterinní růstovou restrikcí a některé mohou i nitroděložně odumřít. Riziko těchto zánětů spočívá i v tom, že se často opakují v následujících graviditách a jejich intenzita se může s každým dalším těhotenstvím stupňovat. Proto je důležité tyto záněty odlišit od zánětů infekční etiologie.

Koronavirová placentitida je zánět, který proniká do placenty z krve matky. Po vazbě virových proteinů na povrch choriových klků dochází k aktivaci komplementu, což přispívá k destrukci povrchového trofoblastu. Díky silnému chemotaktickému účinku komplementu dochází k akumulaci histiocytů (a popř. neutrofilních granulocytů) v intervilózních prostorech placenty. Tyto zánětlivé elementy uvolňují cytokiny, jejichž působení pravděpodobně vede ke zvýšenému ukládání perivilózního fibrinoidu. Tento bílkovinný materiál obliteruje intervilózní prostory a znemožňuje efektivní výměnu látek a krevních plynů mezi mateřským a fetálním krevním řečištěm. Z uvedeného vyplývá, že koronavirová placentitida může být příčinou intrauterinní hypoxie plodu.

Z dostupných vědeckých publikací, ale i z výsledků naší práce vyplývá, že tento zánět je poměrně vzácný. Úkolem této bakalářské práce bylo zrevidovat 830 případů placent, které byly v období pandemie (od 3/2020 do 3/2022) onemocnění COVID-19 vyšetřeny na Šiklově ústavu patologie FN Plzeň. SARS-CoV-2 placentitida byla diagnostikována pouze ve 34 případech, což představuje přibližně 4 % ze všech vyšetřených placent v tomto období. Zajímavostí je, že SARS-CoV-2 placentitida byla prokázána pouze u 16 matek s aktivní koronavirou infekcí. V ostatních případech uplynula od pozitivního PCR testu již delší doba. Dále bylo zjištěno, že ne u všech matek, které během těhotenství prodělaly onemocnění COVID-19, došlo k šíření infekce do placenty. Bohužel nelze říci, o kolik takových případů se jednalo, protože ne všechny placenty jsou rutinně odesílány k histologickému vyšetření. Záleží pouze na uvážení klinika, jakou placentu na vyšetření pošle. Vzhledem k tomu, že u donošených plodů, v jejichž placentách byla SARS-CoV-2 placentitida prokázána, nebyla pozorována významně zhoršená poporodní adaptace, předpokládáme, že z klinického hlediska nebyl důvod v podobných případech placentu k vyšetření odesílat. Můžeme se ale domnívat, že těchto případů mohlo být relativně hodně i vzhledem k tomu, že některé infekce mohou i u matky probíhat zcela asymptomaticky. V našem zkoumaném souboru bylo takovýchto asymptomatických nákaz dvanáct a ve třech z těchto případů byla dokonce nákaza

matky stanovena až zpětně díky histologickému vyšetření placenty, které prokázalo přítomnost SARS-CoV-2 v testovaném vzorku z placentární tkáně. Z toho také vyplývá, že tíže mateřských symptomů nekoreluje se závažností postižení placentární tkáně. Pouze v jednom případě měla matka závažný průběh, který vyžadoval hospitalizaci.

Při revizi histologických případů se podařilo zjistit, že koronavirus může v placentě perzistovat poměrně dlouhou dobu od nákazy. V několika případech byla přítomnost viru v placentární tkáni prokázána po 60 i 70 dnech od laboratorně potvrzené infekce matky. V jednom případě byl virus v placentární tkáni prokázán dokonce 114 dní od nákazy. Zde se ale domníváme, že šlo o asymptomatickou reinfekci matky během těhotenství, neboť varianta viru prokázaná v placentě nekorespondovala s variantou, která se šířila v populaci během primoinfekce matky. Tuto hypotézu však nebylo možné potvrdit, protože matka podstoupila PCR test mimo FN Plzeň a k těmto laboratorním údajům jsme neměli přístup.

Je známo, že pro vstup koronaviru do buňky je klíčová vazba virového proteinu S na angiotenzin konvertující enzym 2 (ACE2) a jeho interakce s transmembránovou serinovou proteázou 2 (TMPRSS2). Obě tyto molekuly jsou exprimovány v placentě. Na základě této znalosti bylo provedeno několik *in vitro* studií, které prokázaly, že expresi ACE2 lze v placentě zvýšit několika způsoby a to například hypoxií. Následně byla vyslovena teorie, že některé mateřské choroby by mohly představovat predispozici pro koronavirovou infekci placenty. Byly zvažovány například hypertenzní choroby včetně preeklampsie, diabetes mellitus nebo trombofilní stavy, protože všechny tyto nemoci mohou vést k mateřské vaskulární malperfúzi a tím k hypoxii placenty. V našem zkoumaném souboru bylo pouze pět matek, které trpěly některým z těchto patologických stavů. Znamky mateřské vaskulární malperfúze se v placentě vyskytovaly jen u dvou z nich. Z tohoto pozorování tedy nelze jednoznačně potvrdit, že by některé choroby matky zvyšovaly riziko vniknutí koronaviru do placenty. Toto podporují i novější studie, které uvádí, že koexprese ACE2 a TMPRSS2 není v placentě tak významná, jak se původně předpokládalo a že zřejmě existují i jiné alternativní cesty vstupu SARS-CoV-2 do placenty, které se zdají být pravděpodobnější. Tato skutečnost do značné míry napadá původní teorii o predisponujících faktorech.

Nezávisle na primárním onemocnění byla u 16 matek pozorována trombocytopenie a/nebo elevace jaterních transamináz. Tyto nálezy jsou však pravděpodobně způsobeny koronavirovou infekcí a lze je spíše považovat za symptom, než za možný predisponující faktor či příčinu. Je známo, že řada virových onemocnění může být spojena s trombocytopenií.

Vývoj trombocytopenie v reakci na virové infekce je obecně zprostředkován zvýšenou destrukcí krevních destiček, které jsou aktivovány komplexy virový antigen-protilátka a jsou snadněji odstraňovány z oběhu retikuloendotelovým systémem. V patogenezi trombocytopenie u onemocnění COVID-19 hraje pravděpodobně roli i produkce protilátek, které mohou zkříženě reagovat s lidským trombopoetinem a mohou tak vést ke snížené produkci krevním destiček. Zvýšení jaterních transamináz může být dáno přímým působením viru na jaterní buňky nebo může být zprostředkováno sekundárně hypoxií.

SARS-CoV-2 placentitida byla ve 14 případech asociována s patologickým kardiografickým záznamem, který svědčil pro hrozící hypoxii plodu a byl indikací k ukončení těhotenství císařským řezem. Devět plodů trpělo růstovou restrikcí. V sedmi případech byla koronavirová placentitida příčinou nitroděložního odumření plodu. Ve všech těchto případech šlo o nedonošené plody, jejichž gestační stáří se pohybovalo od 19. týdnů do 35. týdnů. Placenty mrtvých plodů vykazovaly těžké zánětlivé změny, které postihovaly 40 a více procent placentárního parenchymu. Pouze v jednom z těchto případů měla matka závažný průběh onemocnění v podobě koronavirové pneumonie. U jedné matky byl průběh mírný (suchý dráždivý kašel). V ostatních případech probíhala nákaza asymptomaticky. Pouze matka s těžkým průběhem onemocnění COVID-19 byla v invalidním důchodu, protože v minulosti prodělala polytrauma při autonehodě. Ostatní matky byly zdravé. U žádného plodu, včetně potracených / mrtvě rozených, nebyl prokázán transplacentární přenos koronaviru. Žádný z plodů rovněž neměl vrozené vývojové vady. Obecně byl závažnější poporodní průběh pozorován u nezralých novorozenců, jejichž gestační stáří bylo nižší než 35. týdnů. Kromě intrauterinní hypoxie způsobené poškozením placentární tkáně se na zhoršeném stavu novorozenců jednoznačně podílela i vlastní prematurita, která je i v jiných případech často spojena s rozvojem chorobných změn.

ZÁVĚR

Koronavirová placentitida je relativně vzácná jednotka, jejíž skutečnou incidenci nejspíše nebudeme moci nikdy objektivně hodnotit. Ačkoli je morfologie této jednotky poměrně charakteristická, je vhodné diagnózu potvrdit i dalším vyšetřením. Z našeho pozorování vyplývá, že imunohistochemické vyšetření suspektních případů protilátkou SARS2-Bi-oSB je dostačující, neboť dokáže odlišit koronavirový zánět placenty od morfologicky podobné chronické histiocytární intervillosity neinfekčního původu, která je zatížena vysokým rizikem recidivy v další graviditě. Koronavirovou placentitidu lze naproti tomu považovat za jednorázovou záležitost, která však může v relativně krátkém časovém horizontu zničit podstatnou část tkáně a významně tím snížit funkční kapacitu placenty. Tíže zánětu navíc často nekoreluje s tíží mateřských symptomů. Poškození placenty může být příčinou závažných komplikací včetně růstové restrikce nebo nitroděložního odumření plodu. Prozatím není zcela jasné, zda existují rizikové faktory, které predisponují matku k přestupu infekce do placenty. Je však důležité, že transplacentární přenos infekce je velmi vzácný a dosud nebyl ani u těchto raritních případů prokázán teratogenní účinek na plod. Podle našeho pozorování může virus v placentě perzistovat poměrně dlouhou dobu od nákazy a stále zůstává otázkou, jestli u těchto případů může mít chronicky probíhající infekce vliv na dlouhodobý postnatální vývoj jedince.

SEZNAM LITERATURY

1. ADAMS WALDORF, Kristina M. a Ryan M. MCADAMS, 2013. Influence of Infection During Pregnancy on Fetal Development. *Reproduction (Cambridge, England)* [online]. **146**(5), R151–R162 [vid. 2023-02-20]. ISSN 1470-1626. Dostupné z: doi:10.1530/REP-13-0232
2. AZINHEIRA NOBREGA CRUZ, Nayara, Danielle STOLL, Dulce Elena CASARINI a Mariane BERTAGNOLLI, 2021. Role of ACE2 in pregnancy and potential implications for COVID-19 susceptibility. *Clinical Science (London, England: 1979)* [online]. **135**(15), 1805–1824. ISSN 1470-8736. Dostupné z: doi:10.1042/CS20210284
3. BAERGEN, Rebecca, 2011. *Manual of Pathology of the Human Placenta*.
4. BALKO, Jan, Zbyněk TONAR a Ivan VARGA, 2017. *Memorix histologie*. 2. vydání. Praha: Triton. ISBN 978-80-7553-249-7.
5. BERANOVÁ, MUDr Milena a Mgr Zbyněk TONAR, 2002. Principy a příklady imunohistochemie.
6. CYRANOSKI, David. Mystery deepens over animal source of coronavirus. *Nature*. 2020, roč. 7797, vol. 579, s. 18-19, ISSN 0028-0836.
7. ČECH, Evžen, 1999. *Porodnictví*. Vyd. 1. Praha: Grada. ISBN 978-80-7169-355-0.
8. ČÍŽKOVÁ, Kateřina, 2018. *Základy histochemických metod*.
9. DAUMOVÁ, Magdaléna, Šárka HADRAVSKÁ, a Andrea STRAKOVÁ PETERÍKOVÁ, 2021a. *Morfologické nálezy v placentě asociované s infekc...* | *proLékaře.cz* [online] [vid. 2023-03-10]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/cesko-slovenska-patologie/2021-4-16/morfologicke-nalezky-v-placente-asociovane-s-infekci-sars-cov-2-129175>.
10. DAUMOVÁ, Magdaléna, Šárka HADRAVSKÁ, Lenka PLANIČKOVÁ a Andrea Straková PETERÍKOVÁ, 2021c. Chronické záněty placenty neinfekční etiologie.
11. DAUMOVÁ, Magdaléna, Šárka HADRAVSKÁ, Andrea STRAKOVÁ PETERÍKOVÁ, Tomáš VANĚČEK, Martin MATAS a Vladimír KOREČKO, 2022. SARS-CoV-2 placentitis – report of two cases and review of the literature. *Česká gynekologie* [online]. **87**(2), 111–117 [vid. 2023-03-26]. ISSN 12107832, 18054455. Dostupné z: doi:10.48095/cccg2022111

12. HEEREMA-MCKENNEY A. Defense and infection of the human placenta. *APMIS* 2018; 126(7):570–588. doi: 10.1111/ apm.12847
13. HU, Ben, Hua GUO, Peng ZHOU a Zheng-Li SHI, 2021. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology* [online]. **19**(3), 141–154. ISSN 1740-1534. Dostupné z: doi:10.1038/s41579-020-00459-7
14. HUI, David S., Esam I. AZHAR, Tariq A. MADANI, Francine NTOUMI, Richard KOCK, Osman DAR, Giuseppe IPPOLITO, Timothy D. MCHUGH, Ziad A. MEMISH, Christian DROSTEN, Alimuddin ZUMLA a Eskild PETERSEN, 2020. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health — The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China. *International Journal of Infectious Diseases* [online]. **91**, 264–266 [vid. 2022-12-06]. ISSN 1201-9712. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijid.2020.01.009
15. JANAKIRAMAN, Vanitha, 2008. Listeriosis in Pregnancy: Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Reviews in Obstetrics and Gynecology* [online]. **1**(4), 179–185 [vid. 2023-02-20]. ISSN 1941-2797. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2621056/>
16. JEŽKOVÁ, Marta, Sylva HOTÁRKOVÁ, Katarína MÚČKOVÁ a Ondřej SOUČEK, *Fetopatologie a vývojová patologie embrya a plodu* [online] [vid. 2023-02-14]. Dostupné z: https://atlases.muni.cz/atlases/stary-feto/atl_cz/main+fetopatologie+infekceobalu.html#ascinfplac
17. JIRKOVSKÁ, Marie, 2017. *Histologická technika: pro studenty lékařství a zdravotnické techniky*. Druhé, doplněné vydání. Praha: Galén. ISBN 978-80-7492-325-8.
18. JOHN, Kevin John, Jemimah NAYAR, Ajay Kumar MISHRA, Vijairam SELVARAJ, Mohammad Saud KHAN a Amos LAL, 2021. In-hospital clinical complications of COVID-19: a brief overview. *Future Virology* [online]. 10.2217/fvl-2021–0200 [vid. 2023-03-31]. ISSN 1746-0794. Dostupné z: doi:10.2217/fvl-2021-0200
19. KAPELLER, Karol a Viera POSPÍŠILOVÁ, [b.r.]. *Embryológia človeka: učebnica pre lekárske fakulty*. 2001. vyd. B.m.: Osveta. ISBN 80-8063-072-0.
20. KATZMAN PJ, GENEST DR. Maternal floor infarction and massive perivillous fibrin deposition: histological definitions, association with intrauterine fetal growth restriction, and

riskof recurrence. *Pediatr Dev Pathol* 2002; 5(2):159–164. doi: 10.1007/ s10024001-0195-y.

21. KIM, Chong Jai, Roberto ROMERO, Juan Pedro KUSANOVIC, Wonsuk YOO, Zhong DONG, Vanessa TOPPING, Francesca GOTSCH, Bo Hyun YOON, Je Geun CHI a 21. Jung-Sun KIM, 2010. The Frequency, Clinical Significance, and Pathological Features of Chronic Chorioamnionitis: A Lesion Associated with Spontaneous Preterm Birth. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* [online]. **23**(7), 1000–1011. ISSN 0893-3952. Dostupné z: doi:10.1038/modpathol.2010.73

22. KOBILKOVÁ, Jitka, 2005. *Základy gynekologie a porodnictví*. 1. vyd. Praha: Galén : Karolinum. ISBN 978-80-7262-315-0.

23. SILBERNAGL, Stefan a Agamemnon DESPOPOULOS. Atlas fyziologie člověka. 3. vydání. Praha : Grada, 2004. 435 s. ISBN 80-247-0630-X.

24. TITA, Alan T. N. a William W. ANDREWS, 2010. Diagnosis and Management of Clinical Chorioamnionitis. *Clinics in perinatology* [online]. **37**(2), 339–354 [vid. 2023-02-20]. ISSN 0095-5108. Dostupné z: doi:10.1016/j.clp.2010.02.003

27. TONAR, Zbyněk, 2002. *2.1.3 Nepřímé trojstupňové metody* [online] [vid. 2023-01-03]. Dostupné z: <http://histologie.lfp.cuni.cz/education/guides/ihc/node11.html>

28. TROJAN, Stanislav, 1999. *Lékařská fyziologie*. 3., dopl.rozš. vyd. Praha: Grada. ISBN 978-80-7169-788-6.

29. VAŠUT, PharmDr Karel; VRANOVÁ, PharmDr MVDr Vilma. Koronavirus COVID-19. *Via practica*, 2020, 17.4: 185-188.

30. WÖLFEL, Roman, Victor M. CORMAN, Wolfgang GUGGEMOS, Michael SEILMAIER, Sabine ZANGE, Marcel A. MÜLLER, Daniela NIEMEYER, Terry C. JONES, Patrick VOLLMAR, Camilla ROTHE, Michael HOELSCHER, Tobias BLEICKER, Sebastian BRÜNINK, Julia SCHNEIDER, Rosina EHMANN, Katrin ZWIRGLMAIER, Christian DROSTEN a Clemens WENDTNER, 2020. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature* [online]. **581**(7809), 465–469 [vid. 2022-12-06]. ISSN 1476-4687. Dostupné z: doi:10.1038/s41586-020-2196-x

31. YANG, Dong a Julian L. LEIBOWITZ, 2015. The structure and functions of coronavirus genomic 3' and 5' ends. *Virus Research* [online]. **206**, Special Issue: Functions of the ends of positive strand RNA virus genomes, 120–133 [vid. 2022-12-06]. ISSN 0168-1702. Dostupné z: doi:10.1016/j.virusres.2015.02.025

32. ZHANG, Tao, Qunfu WU a Zhigang ZHANG. Probable Pangolin Origin of 2019-nCoV Associated with Outbreak of COVID-19. *SSRN Electronic Journal*. 2020

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1 Povolení sběru informací ve FN Plzeň 62

Příloha 2 Pracovní protokol pro barvení protilátkou SARS2-BioSB..... 63

PŘÍLOHY

Příloha 1 Povolení sběru informací ve FN Plzeň



FAKULTNÍ NEMOCNICE PLZEŇ

Útvar náměstka pro ošetrovatelskou péči

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

Vážená paní

Denisa Mentlová

Studentka oboru *Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví*

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 získáváním / zpracováním informací o laboratorních metodách / výsledcích, 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 „*Morfologické změny v placentách asociované s onemocněním COVID- 19*“.

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 zcela anonymizovány.
- Sběr informací budete provádět v době Vaší, školou schválené, odborné praxe na ŠÚP a **pod přímým vedením oprávněného zdravotnického pracovníka, kterým je paní Daumová Magdaléna, MUDr., 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: chabrovass@fnplzen.cz

30. 6. 2022

Příloha 2 Pracovní protokol pro barvení protilátkou SARS2-BioSB

Souhrn protokolů

Procedura: U ultraView Red (červená) (v1.02.0018)

BenchMark ULTRA IHC/ISH

Bioptická laborator s.r.o., Mikulasske namesti 4 Plzen

| Č. protokolu | Název protokolu | Ověřeno: Ne | Aktivní: Ano | Verze | Datum vytvoření |
|--------------|--------------------|-------------|--------------|-------|---------------------|
| 557 | SARS2 BioSB red%%% | | | 1 | 03.03.2021 14:57:17 |

- 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 Teploty inkubace protilátky [Zvoleno]
- 12 Zahřát skla na [37 st. C] a inkubovat po dobu 4 minuty (Protilátka)
- 13 Titrace [Zvoleno]
- 14 Hand Apply (Přímá protilátka), and Incubate for [0 h 40 min]
- 15 Jádrové barvení [Zvoleno]
- 16 Aplikovat jednu kapku [HEMATOXYLIN II] (Jádrové barvení), zakrýt a inkubovat po dobu [8 minut]
- 17 Po jádrovém barvení [Zvoleno]
- 18 Aplikovat jednu kapku [BLUING REAGENT] (Po jádrovém barvení), zakrýt a inkubovat po dobu [4 minuty]